Schistosoma mansoni (Trematoda) in **Biomphalaria glabrata** (Gastropoda): Die Änderung der Reaktionslage des Zwischenwirts und ihre Wirkung auf die Weiterentwicklung der Miracidien

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Hans-Dieter Kastenholz
aus Mainz/Rhein

1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536517_0015

Schistosoma mansoni (Trematoda) in **Biomphalaria glabrata** (Gastropoda): Die Änderung der Reaktionslage des Zwischenwirts und ihre Wirkung auf die Weiterentwicklung der Miracidien

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Hans-Dieter Kastenholz
aus Mainz/Rhein

1984

Tag der mündlichen Prüfung: 20. September 1984

Dekan:	Prof. Dr. E. Kulzer
1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. C. Meier-Brook
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. D. Ammermann

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45

Meinen Eltern

Hiermit danke ich Herrn Prof. Dr. W. Höfler für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen.

Für die Überlassung des Themas, sowie für freundliche Betreuung und hilfreiche Diskussionen danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. C. Meier-Brook.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. P. Wenk für anregende Diskussion und Herrn Prof. Dr. K. Dietz für hilfreiche Hinweise zur statistischen Auswertung der Ergebnisse.

G l i e d e r u n g

		Seite:
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	2
2.1.	Aufzucht von Biomphalaria glabrata und Haltung von Schistosoma mansoni	2
2.2.	Versuch A Infektionserfolg eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata	3
2.3.	Versuch B Wanderung eines Schistosoma mansoni-Miracidiums nach der Penetration in Biomphalaria glabrata	4
2.4.	Versuch C Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 3, 5 und 8 Schistosoma mansoni-Miracidien	4
2.5.	Versuch D Exposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien in verschiedenen Zeitintervallen (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d)	5
2.6.	Histologische Techniken	6
3.	Ergebnisse	7
3.1.	Ergebnisse der Vorversuche	7
3.2.	Versuch A	8
3.2.1.	Verhalten der Miracidien	8
3.2.2.	Penetration und Penetrationsversuche	10
3.2.3.	Penetrations- und Infektionserfolg in Abhängigkeit vom Penetrationsort	12
3.2.4.	Penetrations- und Infektionserfolg in Abhängigkeit von Anzahl und Dauer vergeblicher Penetrationsversuche	14
3.3.	Versuch B	
3.3.1.	Wanderung eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata nach der Penetration	16
3.3.2.	Ergänzende Beobachtungen	18

Seite:

3.4. Versuch C 21
3.4.1. Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 3, 5 und 8 Schistosoma mansoni-Miracidien 21
3.4.2. Wachstum nach Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien 28
3.4.3. Lage der Muttersporocysten 31
3.5. Versuch D 34
3.5.1. Exposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien in verschiedenen Zeitintervallen (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d) 34
3.5.2. Histologische Befunde an den in 3-tägigen Intervallen infizierten Biomphalaria glabrata-Schnecken 42

4. Diskussion 45
4.1. Versuch A 45
4.2. Versuch B 49
4.3. Versuch C 52
4.4. Versuch D 55

5. Zusammenfassung 66

6. Literaturangaben 69

Summary 82

1. Einleitung

Im Rahmen der Vorstellung eines mathematischen Modells der Schistosomiasis schrieb Macdonald (1965) über das Auftreten von Mehrfachinfektionen in Zwischenwirtsschnecken:
"The well accepted possibility of multiple infection in the snail has also been ignored. There have been many demonstrations of this happening, though all of those known to the writer concern multiple infection due to virtually simultaneous penetration of two or more miracidia, and there is some doubt whether superinfection can occur on top of an already well developed infection."
Nach dieser Aussage sollten also alle Mehrfachinfektionen, die regelmäßig gefunden werden können (Stirewalt 1951) auf gleichzeitige Penetration von Miracidien zurückzuführen sein. In Übertragungsgebieten sollte man demnach eine hohe Miracidiendichte, die neben der Beschaffenheit der Zwischenwirte von epidemiologischer Bedeutung ist, erwarten können (Carter 1982, Anderson 1982).

Mit quantitativen Methoden war nun im Laborversuch zu untersuchen, welche Faktoren grundsätzlich die Entwicklung bei unimiracidieller Exposition eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata beeinflussen.
Bei der Simulation eines hyper- (hohe Miracidiendichte) und eines hypoendemischen Gebietes (niedrige Miracidiendichte) sollte der Penetrations- und Entwicklungserfolg der Miracidien untersucht werden.
Durch zeitlich gestaffelte Miracidiengabe war die mögliche Unterdrückung der Entwicklung nachfolgender Miracidien zu untersuchen.
Zur Deutung der so gefundenen quantitativen Aussagen dienten zusätzlich histologische Befunde. Neben Abbauerscheinungen an nachfolgenden Miracidien oder deren Folgestadien war der Bildungsort der Abwehrzellen - Amoebocyten - (Lie 1975a) und dessen Aktivitätszustand von besonderem Interesse, sowie die Untersuchung möglicher Resistenzausbildung in Zwischenwirtsschnecken.

2. Material und Methoden

2.1. Aufzucht von Biomphalaria glabrata und Haltung von Schistosoma mansoni

Biomphalaria glabrata Say (Belo Horizonte, 1967 isoliert durch W.L. Paraense) wurde in Makrolonbehältern (v = 5 l) bei guter Durchlüftung, 25° ± 1° C und einem 12-stündigen Licht-Dunkel-Rhythmus gehalten. Einmal wöchentlich wechselte ich das Wasser gegen frisches, über Aktivkohle entchlortes Wasser aus, das bei allen anderen Versuchen ebenfalls Verwendung fand und vorher etwa 12 Stunden bei 25° C durchlüftet wurde.
Die Schnecken erhielten täglich frischen Salat im Überschuß, sowie in wöchentlichen Abständen Futter nach Standen (1951). Zum Versuch zog ich nur solche Tiere heran, die mit einem Gehäusedurchmesser von 5 mm gleiches physiologisches Alter aufwiesen und aus absolut chaetogasterfreien Zuchtbecken stammten (Michelson 1964a).

Die Miracidien wurden aus Kot von Mäusen gewonnen (NMRI), die etwa 6 Wochen zuvor pedal mit je 150 Cercarien von Schistosoma mansoni (Sambon) des Stammes BHSM (1967 isoliert in Belo Horizonte durch W.L. Paraense) für ca. 2 Stunden exponiert waren.
Der Kot wurde über Nacht in 0,9 % NaCl-Lösung gesammelt, am folgenden Morgen ausgewaschen (McMullen & Beaver 1945) und die Miracidien bei 25° C in entchlortem Wasser zum Schlüpfen gebracht.
Zur Infektion der Schnecken und während der Versuche nahm ich nur solche Miracidien, die ich bis 2 Stunden nach dem Ansetzen des Schlüpfkolbens aus dem beleuchteten Seitenarm entnehmen konnte. Falls es sich bei den Versuchen als erforderlich erwies, setzte ich Schlüpfkolben zeitlich gestaffelt auf.

Alle Schnecken wurden nach der Beendigung der Versuche bis zum Cercarienausstoß 35 Tage lang (Versuche A und B), oder bis zur Präparation 13 Tage lang (Versuche C und D), zur bes-

seren Identifizierung in Einzelkammern (jeweils 50 kommunizierend in 5 l Wasser) bei den oben genannten Bedingungen gehalten.

2.2. Versuch A
Infektionserfolg eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata

Die Penetration und Penetrationsversuche eines Schistosoma mansoni-Miracidiums an Biomphalaria glabrata (Gehäusedurchmesser 5 mm) beobachtete ich in einer 5 ml Wasser fassenden Kammer (Tissue Culture, Greiner) für 30 Minuten mit einer Wild M8 Binokularlupe.
Dabei protokollierte ich die Zeit vom Versuchsbeginn bis zum ersten Penetrationsversuch, den Penetrationsort, die Dauer der Penetration sowie Anzahl und Dauer vergeblicher Penetrationsversuche.

Um genau 1 Miracidium mit 1 Schnecke zusammenzubringen, gab ich zunächst eine unbestimmte Anzahl Miracidien in ein Blockschälchen. Unter binokularer Kontrolle gab ich nun ein offensichtlich normal schwimmendes Miracidium mittels einer Pipette in einem Tropfen Wasser in das Versuchsgefäß (Lim et al., 1972). Dieser Tropfen wurde vor der Zugabe von 5 ml Wasser nochmals kontrolliert; gegebenenfalls wurden überzählige Miracidien entfernt. Die Wassertemperatur wählte ich nach dem von Upatham (1973; DeWitt 1954) ermittelten Penetrationsoptimum auf 25° C.
Eine seitliche dunkelfeldähnliche Beleuchtung erwies sich bei der Beobachtung als günstig.
Nach geglückter Penetration wurden die Schnecken für 35 Tage in Einzelkammern gehalten und der Infektionserfolg durch Cercarienausstoß festgestellt. Falls ein Miracidium nach 30 Minuten noch nicht penetriert hatte, wurde das protokolliert, die Schnecke jedoch für keinen weiteren Versuch mehr verwendet.

2.3. Versuch B
Wanderung eines Schistosoma mansoni-Miracidiums nach der Penetration in Biomphalaria glabrata

Ein Miracidium und 1 Schnecke wurden unter den bei Versuch A geschilderten Bedingungen beobachtet.
13 Tage nach der Exposition suchte ich die in Einzelkammern gehaltenen Schnecken nach einer Muttersporocyste ab und verglich deren Lage mit dem protokollierten Penetrationsort. Auf eine Betäubung der Schnecke verzichtete ich, um etwaige Schädigungen der Muttersporocyste durch das Betäubungsmittel zu vermeiden.

Nach 35 Tagen wurden alle Schnecken auf Cercarienausstoß getestet. In 3- bis 4wöchigen Abständen wurden die Schnecken nach dem Verbleib der Muttersporocysten untersucht und dabei stichprobenartig einige Tiere präpariert. Die Präparation führte ich in einer physiologischen Lösung nach J.A. Wilson (1979) durch.
Dabei registrierte ich, wie lange die Muttersporocysten am lebenden Tier jeweils sichtbar blieben und wie lange sie noch Tochtersporocysten enthielten.

2.4. Versuch C
Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 3, 5 und 8 Schistosoma mansoni-Miracidien

Für die Dauer der Expositionszeit (30 Minuten) befanden sich 3, 5 oder 8 Miracidien und 1 Schnecke (Gehäusedurchmesser 5 mm) in einer 5 ml Wasser fassenden Kammer. Die Zahl der eingesetzten Miracidien bestimmte ich nach der in Teil 2.2. beschriebenen Methode.
Für jede Schnecke wurde nach 30 Minuten die Zahl der penetrierten Miracidien aus der Differenz eingesetzte/übriggebliebene Miracidien bestimmt.

Das Wiederfinden der Miracidien wurde dadurch erleichtert, daß ich die Schnecken zunächst in ihrer Versuchskammer abspülte und nach ihrer Entnahme das Wasser in der Expositionskammer durch Drehung in Bewegung brachte. Die verbliebenen Miracidien konnte ich nun unschwer bei binokularer Kontrolle daran erkennen, daß sie gegen die entstandene Strömung schwammen.
Die so wiedergefundenen Miracidien wurden, um doppelte Registrierung zu vermeiden, aus der Kammer abpipettiert.
Zur Absicherung der gefundenen Miracidienzahlen wurde jede Versuchskammer zweimal kontrolliert.
In zwei Kammern ohne Schnecke hielt ich während der Versuche die entsprechende Zahl Miracidien (3, 5 oder 8) zur Kontrolle.
Nach der Exposition hielt ich die Schnecken einzeln für 13 Tage. Anschließend wurden die Tiere einzeln über Nacht mit einer Überdosis Pentobarbital (ca. 10 mg/5 ml) (Meier-Brook 1976) eingeschläfert.

2.5. Versuch D

Exposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien in verschiedenen Zeitintervallen (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d)

Bei der Kombination 5 Miracidien/1 Schnecke wurden neben der Simultanexposition noch weitere Versuche mit gestaffelter Miracidiengabe durchgeführt.
Je eine Schnecke erhielt insgesamt 5 Miracidien, war also 5 mal immer nur einem Miracidium ausgesetzt.
Das jeweils nächste Miracidium wurde nach folgenden Zeitabständen gegeben:

1/2 h: sofort nach Beendigung der vorangegangenen Exposition
1 h : 1/2 h nach Beendigung der vorangegangenen Exposition
1 d : 24 h nach Beendigung der vorangegangenen Exposition
3 d : 72 h nach Beendigung der vorangegangenen Exposition

In den Pausen zwischen den Expositionen befanden sich die Schnecken in miracidienfreiem Wasser der oben beschriebenen Qualität.
13 Tage nach der 5. Miracidien-Exposition wurden die Schnekken einzeln eingeschläfert und die Anzahl sowie Lage der Muttersporocysten bestimmt.
Außerdem achtete ich beim 1-Tages- und 3-Tagesintervall während der Präparation darauf, ob schon Tochtersporocysten in der Mitteldarmdrüse zu sehen waren.
25 Tiere des 3-Tagesintervallversuchs wurden fixiert und histologisch auf den Zustand des "Lie'schen Organs" untersucht. Die histologischen Befunde wurden mit den an gesunden Schnecken gefundenen verglichen.

2.6. Histologische Techniken

Sofort nach dem Wegbrechen des Gehäuses wurden die zu untersuchenden eingeschläferten Schnecken mit einer Irisschere zerteilt und in Bouin'schem Fixiergemisch fixiert (Romeis 1948 § 305).
Nach der Fixierung und Alkoholentwässerung bereitete ich die Gewebeteile für die Einbettung in Histoplast (Serva) bei 60° C vor (Burck 1966, Romeis 1948 § 659).
Die eingebetteten Präparate wurden am Universal-Mikrotom, Modell 1140/Autocut (Jung, Heidelberg) in 6 µm dicke Schnitte geteilt.
Nach der Trocknung der Schnittbänder bei 36° C wurden die Präparate aus dem Wanderungsversuch (B) in Azan und alle anderen in Hämalaun und Eosin angefärbt (Burck 1966, Romeis 1948 § 433).
Die Schnitte durchmusterte ich an einem Leitz SM-Lux.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse der Vorversuche

Vorversuch 1:

30 Biomphalaria glabrata (Gehäusedurchmesser 5 mm) wurden einzeln mit je 1 Schistosoma mansoni-Miracidium infiziert. Ohne die Miracidien bei ihren Penetrationsversuchen zu beobachten, also bei gleichmäßiger Beleuchtung, ermittelte ich nach 30 Minuten die Anzahl penetrierter Miracidien.
Nach 13-tägiger Einzelhaltung bestimmte ich durch Präparation und Aufsuchen der Muttersporocysten die Infektionsrate, die ich mit den anderweitig durch Cercarienausstoß ermittelten Infektionsraten verglich.

Die durch Präparation ermittelte Infektionsrate unterschied sich mit 26,6 % nicht signifikant (χ^2-Test) von den durch Cercarienausstoß gefundenen (siehe 3.2.).
Der Prozentsatz Miracidien, die nach 30 Minuten penetriert hatten, war höher (76,6 %) als bei Versuch A (54 %), wo das Versuchsgefäß während der Beobachtung seitlich beleuchtet war.

Vorversuch 2:

30 Minuten lang exponierte ich 35 Schnecken einzeln je 1 Miracidium in 5 ml Wasser.
Für dieselbe Zeitdauer wurden 7 mal je 5 Schnecken im fünffachen Wasservolumen 5 Miracidien ausgesetzt.
Nach 35 Tagen stellte ich die durch Cercarienausstoß ermittelten Infektionsraten gegenüber. Zusätzlich präparierte ich die Schnecken der zweiten Gruppe und bestimmte die Anzahl Muttersporocysten je Tier.

Beim Vergleich der Infektionsraten der Einzel- und der Gruppenexposition bei gleicher Miracidiendosis fand ich mit 24,3 % und 25 % der Überlebenden (je 2 Schnecken starben wäh-

rend der Präpatenz) keinen Unterschied. Bei der Präparation der Gruppen zu je 5 exponierten Schnecken fand ich nur 1 Exemplar mit 2 Muttersporocysten, alle übrigen infizierten mit nur einer.

3.2. Versuch A

3.2.1. Verhalten der Miracidien

Während der Beobachtungszeit unternahmen 80 % der Miracidien (n = 160) mindestens einen Penetrationsversuch.
Die Hälfte der Miracidien konnte die Schnecke penetrieren. Von den Eingedrungenen entwickelte sich wiederum die Hälfte bis zum Cercarienausstoß, so daß 27,5 % der überlebenden Schnecken (9 Schnecken starben in der Präpatenz) infiziert waren (Abb. 1).

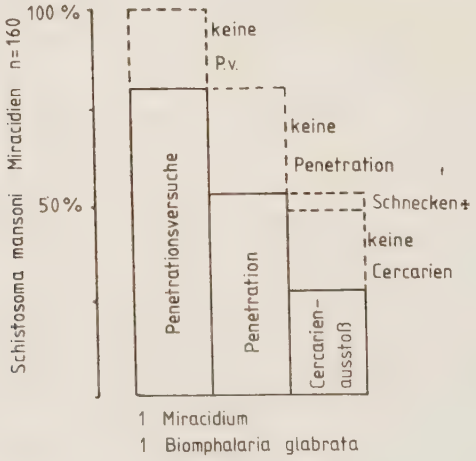


Abb. 1: Penetrations- und Entwicklungserfolg eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Einzelexposition von Biomphalaria glabrata (Beobachtungszeit: 30 Minuten, PV = Penetrationsversuch)

Die gesamte Beobachtungszeit teilte ich in Klassen von 2-Minutenintervallen ein (Abb. 2).
Der erste Penetrationsversuch wurde von den meisten Miracidien während 4 bis 6 Minuten nach Versuchsbeginn gestartet. Die ersten Reaktionen auf die Schnecke, die sich in Umkreisen oder wiederholter Annäherung äußerten, konnten allerdings schon früher beobachtet werden.

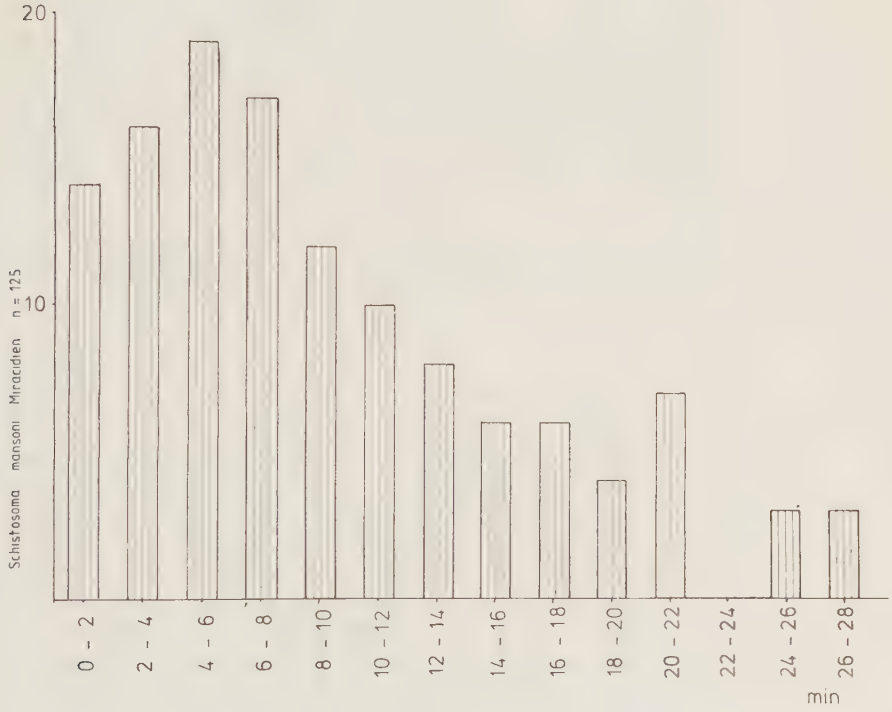


Abb. 2: Zeit vom Zusammensetzen von 1 Schistosoma mansoni-Miracidium und 1 Biomphalaria glabrata bis zum Beginn des ersten Penetrationsversuchs

3.2.2. Penetration und Penetrationsversuche

Insgesamt wurden von den 160 Miracidien 196 Penetrationsversuche unternommen, wobei 43,9 % zum Penetrations- und 22,4 % zum Infektionserfolg führten. Die Hälfte der erfolgreichen Penetrationen führten bei unimiracidieller Exposition also zum Infektionserfolg, wie schon oben (3.2.1.) angedeutet (Abb. 3).

Die Dauer der Penetration vom Anheften des Miracidiums bis zum Verschwinden in der Schnecke betrug 5'58" ± 2'31" (n = 110; Daten aus Versuch A und B, Abb. 4). Nicht alle Penetrationen konnten in ihrer Gesamtdauer gemessen werden. Ein Miracidium unterbrach sogar den Penetrationsvorgang, nachdem es schon bis zur halben Körperlänge eingedrungen war. Anschliessend sank es in trudelnden Bewegungen zu Boden.

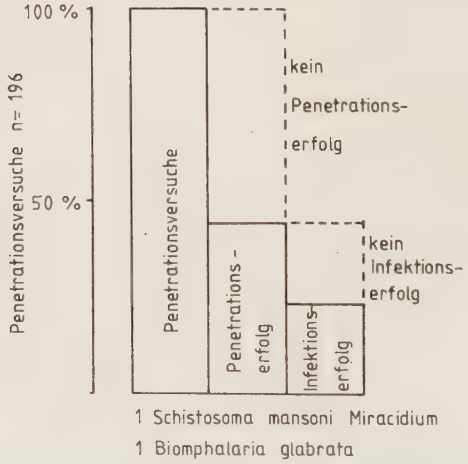


Abb. 3: Aufteilung aller Penetrationsversuche, die von Schistosoma mansoni-Miracidien (n = 160) an Biomphalaria glabrata bei Einzelexposition gemacht wurden

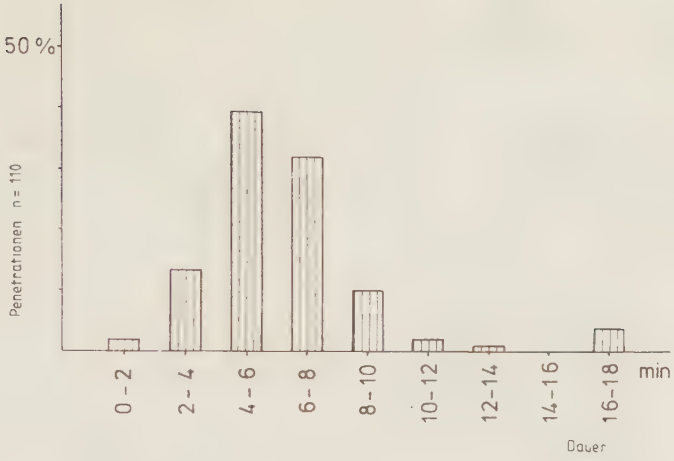


Abb. 4: Dauer vom Ansetzen eines Miracidiums (Schistosoma mansoni) bis zum Verschwinden in der Schnecke (Biomphalaria glabrata)

Die Dauer der abgebrochenen Penetrationsversuche betrug 2'40" ± 2'30" und an Stagnicola elodes 2'54" ± 1'40" (Abb. 5). Zum Vergleich sind die entsprechenden Daten von vergeblichen Penetrationsversuchen an der Schlammschnecke Stagnicola elodes (Kastenholz et al., 1982) mit eingetragen.

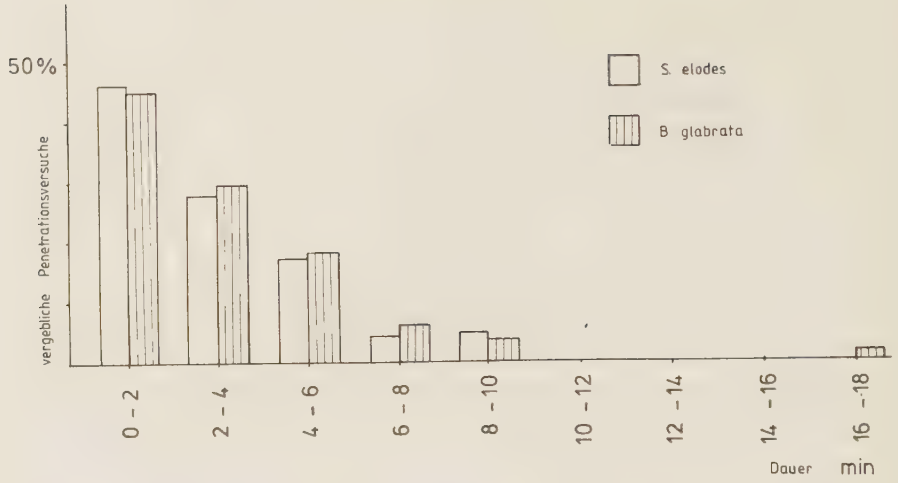


Abb. 5: Dauer vergeblicher Penetrationsversuche eines Schistosoma mansoni-Miracidiums an Biomphalaria glabrata (n = 96) und im Vergleich (Kastenholz et al., 1982) an der Schlammschnecke Stagnicola elodes (n = 76)

3.2.3. Penetrations- und Infektionserfolg in Abhängigkeit vom Penetrationsort

Die Wahl des Ortes für den ersten Penetrationsversuch ist offenbar zufällig. Die für die Beobachtung gewählten Bereiche der Schnecke lassen sich morphologisch gut voneinander unterscheiden, sind flächenmäßig jedoch nicht gleich groß, weshalb ich hauptsächlich den prozentualen Penetrations- und Infektionserfolg an den jeweiligen Bereichen miteinander vergleichen möchte (Abb. 6).

Etwa gleich viele Penetrationsversuche wurden am Kopf und Fuß begonnen. Am Kopf führten jedoch nur ein Fünftel zum Penetrationserfolg; am Fuß hingegen mehr als die Hälfte (χ^2-Test, $p < 0{,}01$).

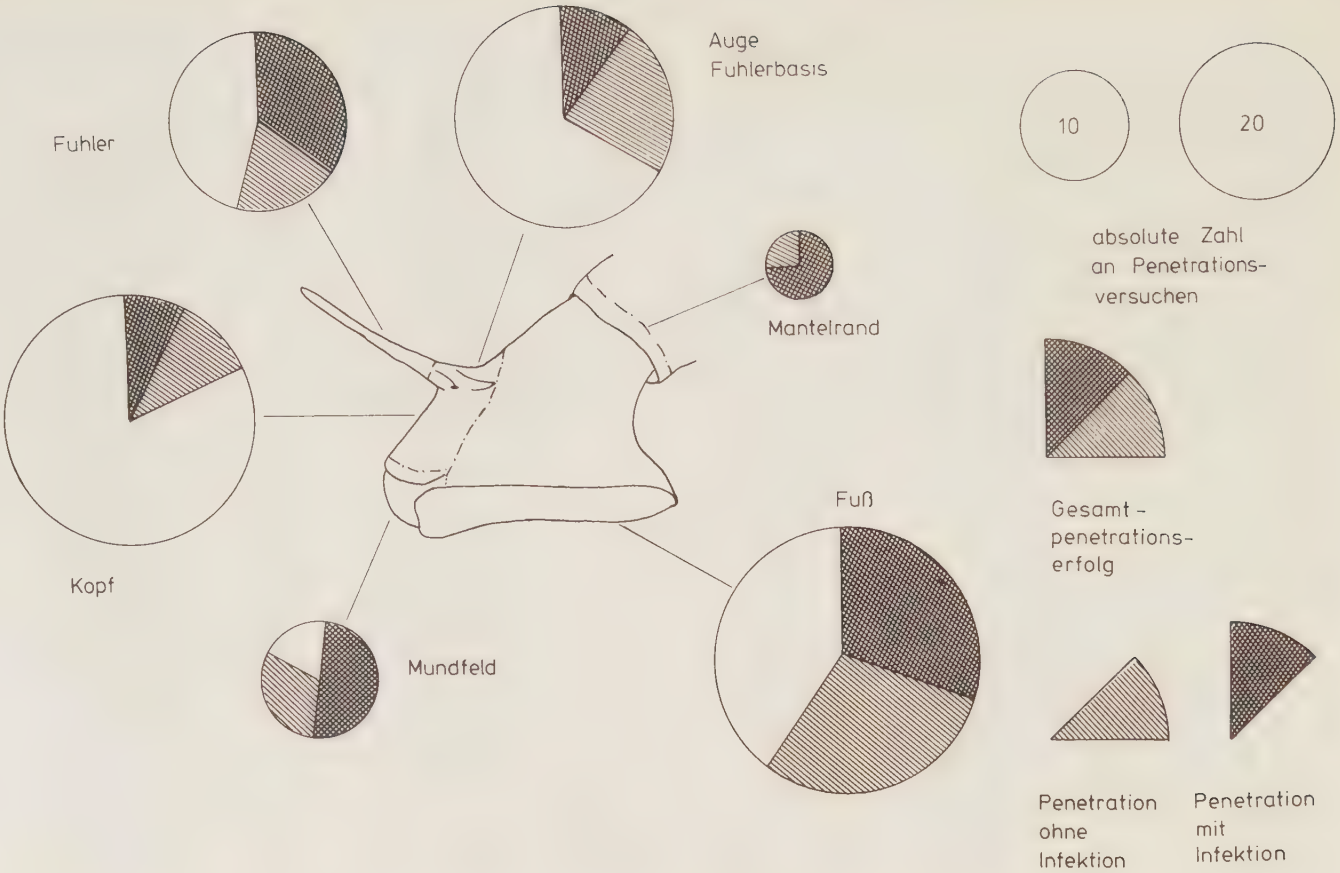


Abb. 6: Penetrations- und Infektionserfolg der Schistosoma mansoni-Miracidien in Abhängigkeit vom Penetrationsort an Biomphalaria glabrata (n = 160)

Auffallend ist, daß, unabhängig vom Penetrationsort, etwa die Hälfte der erfolgreichen Penetrationen zum Infektionserfolg führten.

Die unterschiedlich gute Penetrierbarkeit der verschiedenen Bereiche zeigt sich auch beim Vergleich der jeweilig ermittelten Penetrationszeiten (Daten aus Versuch A und B). In den Bereichen, die wenig erfolgreiche Penetrationen aufwiesen, zeigten sich auch längere Penetrationszeiten (Tab. 1).

Die Penetration in den Kopfteil der Schnecke dauert signifikant länger als in den Fuß (t-Test, $p < 0,05$).

Penetrationsort	erfolgreiche Penetration/ Anzahl PV	Penetrationsdauer $\bar{x} \pm$ s.d.	n
Kopf	0,18	8'27" ± 3'39"	20
Fühlerbasis	0,33	6'27" ± 3'21"	13
Fuß	0,59	5'39" ± 2'51"	45
Fühler	0,54	4'45" ± 1'40"	21
Mundfeld	0,8	4'37" ± 1'04"	11

Tab. 1: Penetrationserfolg und -dauer an den entsprechenden Penetrationsorten. (Da der Mantelrand nicht immer gut einzusehen war, liegen hierfür keine Messungen vor. PV = Penetrationsversuch, $\bar{x}$ total = 5'58")

3.2.4. Penetrations- und Infektionserfolg in Abhängigkeit von Anzahl und Dauer vergeblicher Penetrationsversuche

Penetrations- und Infektionserfolg eines Schistosoma mansoni-Miracidiums sind nicht nur vom Penetrationsort an der Zwischenwirtsschnecke, sondern auch von der Anzahl und Dauer vergeblicher Penetrationsversuche beeinflußt (Abb. 7).

Etwa die Hälfte aller Miracidien machte nur einen Penetrationsversuch (Gruppe 1), wobei immerhin 3/4 dieser Miracidien die Schnecke auch beim ersten Versuch penetrieren konnte. Lediglich die Hälfte der Eingedrungenen entwickelte sich bis zum Cercarienausstoß.
Von den Miracidien, die erst beim zweiten Penetrationsversuch erfolgreich waren (Gruppe 2), konnten anteilmäßig gleich viele penetrieren. Nur noch etwa ein Drittel der Eingedrungenen entwickelte sich bis zum Cercarienausstoß.
Miracidien, die die Schnecke erst beim dritten oder einem weiteren Penetrationsversuch penetrieren konnten (Gruppe 3), waren sowohl in ihrem Penetrations- als auch in ihrem Infektionserfolg deutlich gegenüber den anderen behindert. Nur noch ein Fünftel konnte penetrieren.

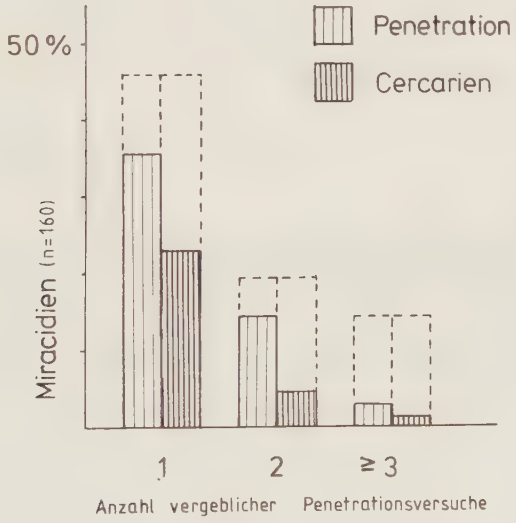


Abb. 7: Penetrations- und Infektionserfolg ("Cercarien") der Schistosoma mansoni-Miracidien bei unimiracidieller Exposition von Biomphalaria glabrata in Abhängigkeit von der Anzahl der Penetrationsversuche.
(Gestrichelt: Prozentsatz der Miracidien mit Penetrationsversuchen)

Bei 53 Miracidien-Schneckenpaaren konnte die Dauer aller vorangegangener vergeblicher Penetrationsversuche gemessen werden, die offensichtlich auch den Penetrations- und Infektionserfolg negativ beeinflussen kann (Abb. 8).

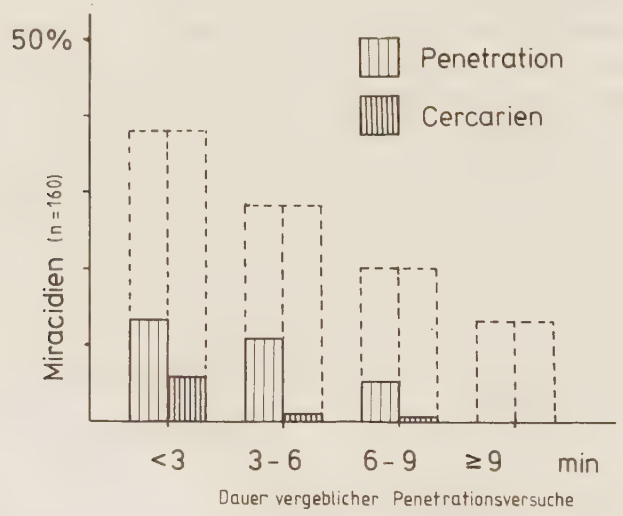


Abb. 8: Penetrations- und Infektionserfolg der Schistosoma mansoni-Miracidien bei unimiracidieller Exposition von Biomphalaria glabrata in Abhängigkeit von der Dauer vorangegangener vergeblicher Penetrationsversuche.
(Gestrichelt: Prozentsatz erfolgloser Miracidien nach vergeblichen Penetrationsversuchen entsprechender Dauer)

3.3. Versuch B

3.3.1. Wanderung eines Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata nach der Penetration

Wanderungen eines Miracidiums fanden sofort nach der Penetration statt, was ich in einigen Fällen beobachten konnte. So penetrierte zum Beispiel ein Miracidium in die Fühlerspitze

und wanderte anschließend amöbenartig in ca. 10 Minuten zur Fühlerbasis, wo ich 13 Tage später die Muttersporocyste fand.
Da ich die Schnecken 13 Tage nach der Exposition nicht zur Präparation tötete, erwies sich das Finden der Muttersporocysten - im Gegensatz zu Pentobarbital behandelten Schnekken - als relativ schwierig. In all den Fällen, in denen ich eine Muttersporocyste fand, wurden auch nach der üblichen Präpatenzzeit Cercarien ausgestoßen. 30 von 82 exponierten Schnecken waren infiziert (Infektionsrate: 36,6 %).
8 von 25 Muttersporocysten befanden sich nicht am Ort der Penetration (Abb. 9).
In 5 Schnecken konnte ich die Muttersporocyste am lebenden Tier nicht finden, da sie wahrscheinlich weiter innen im Fußgewebe oder im Mantelrand lag. Nur bei einer Sektion wäre sie gefunden worden. Die Wanderung der Miracidien war in den meisten Fällen in Richtung Fußbasis oder von der Kopffront weg.

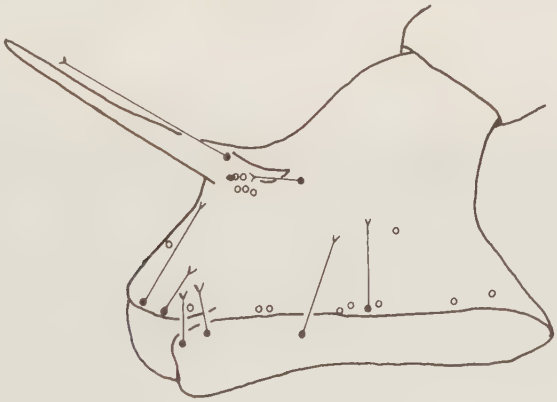


Abb. 9: Wanderung der Schistosoma mansoni-Miracidien nach unimiracidieller Exposition in Biomphalaria glabrata;
➤——● Wanderung vom Penetrationsort (➤——) bis zur Lage der Muttersporocyste (——●) (n = 8),
o keine Wanderung nach der Penetration (n = 17)

3.3.2. Ergänzende Beobachtungen

Die Muttersporocysten (n = 25) wurden - bis auf 3 - bei denen die Sporocyste nach 8 (in 2 Fällen) bzw. 6 (in 1 Fall) Wochen p.i. (post infectionem) nicht mehr zu sehen waren, aber immer noch Cercarien ausgestoßen wurden, bis zum Tod der Schnecke oder deren Präparation (9 Wochen p.i.) wiedergefunden. Penetrierte Schnecken, die eine Muttersporocyste trugen, lebten durchschnittlich noch ca. 10 Wochen p.i., solche ohne Muttersporocyste noch 12 Wochen.

Lebende Tochtersporocysten konnte ich bei der Präparation noch 9 Wochen p.i. aus einer Muttersporocyste isolieren oder in Schnittpräparaten feststellen. Ältere Muttersporocysten (7 Wochen p.i., Abb. 11) ließen im Gegensatz zu jungen (10 d.p.i., Abb. 10) nicht mehr die aufgeknäuelte Form erkennen. Sie lagen nun relativ leer im Gewebe, wobei einige Septen erkennbar wurden.

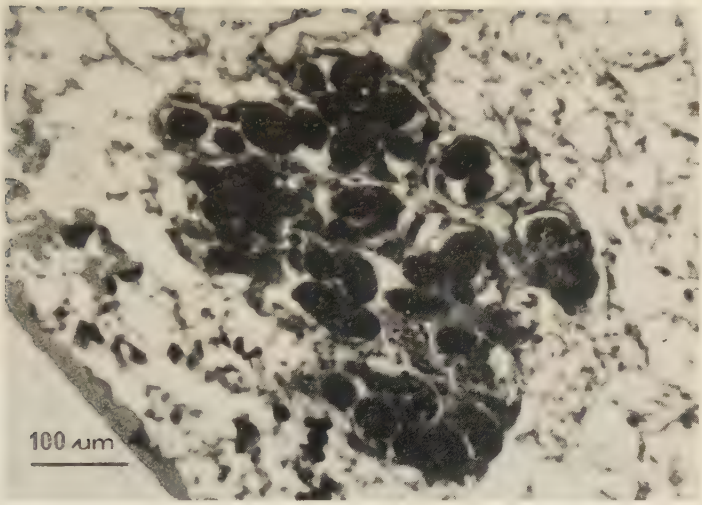


Abb. 10: Muttersporocyste von Schistosoma mansoni 13 d.p.i. im Fußgewebe von Biomphalaria glabrata

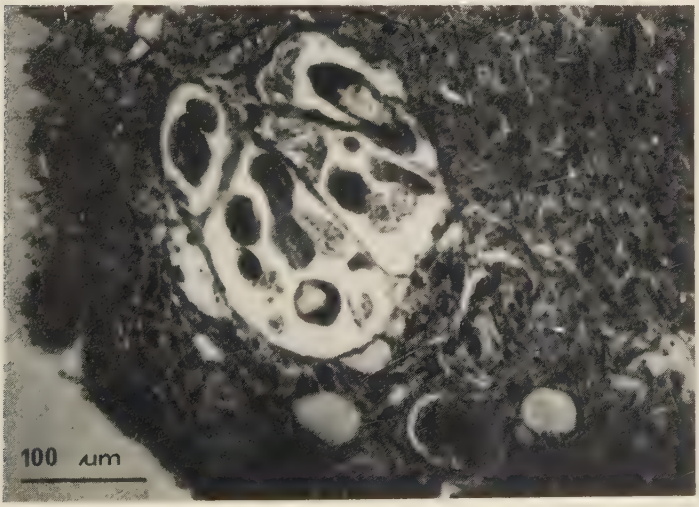


Abb. 11: Muttersporocyste von Schistosoma mansoni (ca. 50 d.p.i.) im Fußgewebe von Biomphalaria glabrata

Bei Schnecken, die 8 Wochen p.i. oder später präpariert wurden, konnte ich Cercarien im Fußgewebe finden (Abb. 12).

Während der Beobachtungen an lebenden Schnecken drangen Cercarien auch aus dem Fußgewebe aus. Offensichtlich können einige Cercarien auch auf diesem Wege, nämlich bei einer Cercarienembolie (Pan 1965), die Schnecke verlassen. Zum Teil werden solche Cercarien von Abwehrzellen der Schnecke umgeben, andere wiederum liegen in lockerem Gewebe und erregen offenbar keine Zellabwehr.

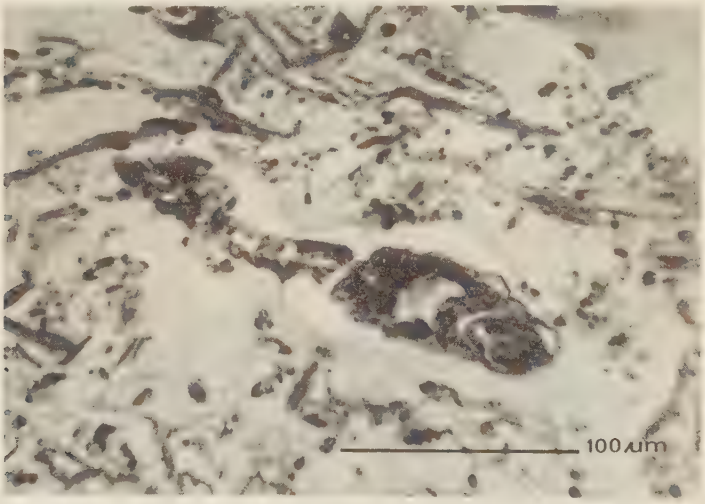


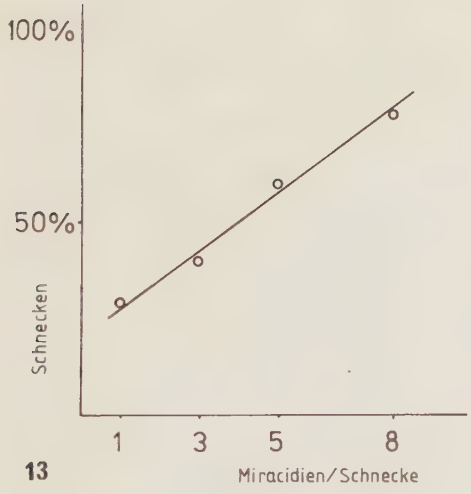
Abb. 12: Cercarie von Schistosoma mansoni 8 Wochen p.i. im Fußgewebe von Biomphalaria glabrata

Mündungsdeformationen konnte ich bei nur 3 infizierten Schnecken 14, 18 bzw. 20 Wochen p.i. feststellen, wobei die Muttersporocyste jedoch nicht in der Mantelgegend zu finden war.

3.4. Versuch C

3.4.1. Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 3, 5 und 8 Schistosoma mansoni-Miracidien

Die Infektionsraten nehmen bis zur Exposition mit 8 Miracidien linear zu (Abb. 13).
Auch der Prozentsatz mehrfach infizierter Schnecken nimmt, sowohl bezogen auf die Gesamtzahl exponierter, als auch auf die Zahl positiver Schnecken, in diesem Bereich mit der Miracidiendosis linear zu (Abb. 14).



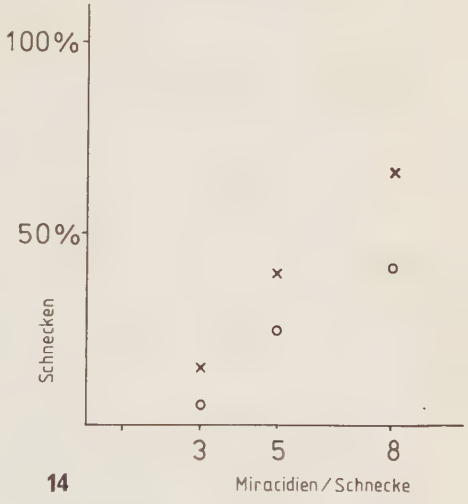
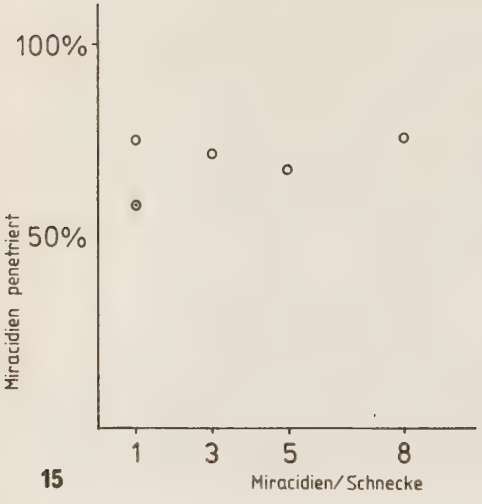


Abb. 13: Infektionsrate von Biomphalaria glabrata in Abhängigkeit von der Schistosoma mansoni-Miracidiendosis. Regression: $y = 7{,}35\ x + 20{,}65$

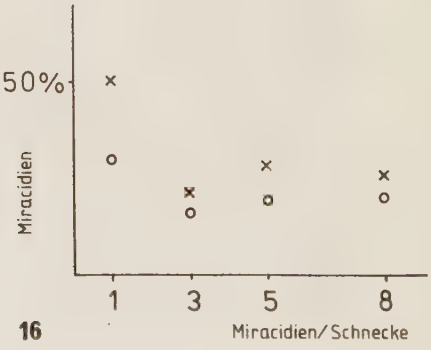
Abb. 14: Prozentsatz der mehrfach infizierten Biomphalaria glabrata-Schnecken an positiven (x) und an insgesamt eingesetzten Schnecken (o)

Penetrationserfolg der Miracidien:
Wenn eine Schnecke 8 Miracidien exponiert war, so penetrierten relativ mehr als bei der Exposition mit 3 oder 5 Miracidien (χ^2Test: $p < 0{,}05$). Ein einzelnes Miracidium hatte etwa den gleichen Penetrationserfolg wie jedes von 8 eingesetzten (Abb. 15).

Die Entwicklungswahrscheinlichkeit zur Muttersporocyste ist in den Versuchen mit 3, 5 und 8 Miracidien mit etwa 1/4 gleich (Abb. 16). Sie ist jedoch signifikant niedriger als bei unimiracidiellen Expositionen, wo die Hälfte der Eingedrungenen zur Entwicklung gelangt (Versuch A).



15



16

Abb. 15: Prozentsatz der penetrierten Miracidien in Abhängigkeit von der Miracidiendosis (o) (n siehe Tab. 2) (•) Penetrationserfolg der Miracidien bei seitlicher Beleuchtung in Versuch A)

Abb. 16: Prozentsatz der sich zur Muttersporocyste entwickelnden Schistosoma mansoni-Miracidien an eingedrungenen (x) und insgesamt eingesetzten (o) in Abhängigkeit von der Miracidiendosis (n siehe Tab. 2)

Die durchschnittliche Zahl an Muttersporocysten in positiven Schnecken steigt mit der Anzahl angebotener Miracidien linear an (Tab. 2, Zeile 7).
Ein als Miracidieneffizienz (Lo 1972: Quotient aus Anzahl eingesetzter Miracidien und Anzahl positiver Schnecken) bezeichneter Wert nimmt mit steigender Miracidiendosis zu.

Meiner Meinung nach wäre die Miracidieneffizienz sinnvoller als Reziprokwert von Lo's Quotient dargestellt, da sich eine Abnahme der Effizienz eigentlich in einem niedrigeren anstelle eines höheren Wertes ausdrücken sollte (Tab. 2, Zeile 8).

	Miracidien/ Schnecke	3	5	8
1	Biomphalaria glabrata n	85	169	42
2	Schistosoma mansoni Miracidien m	255	845	336
3	B glabrata mit Muttersporocysten % 13d.p.i.	34 40,0	102 60,3	33 78,6
4	Mehrfachinfektionen/ positive Schnecken%	5 14,7	43 42,2	22 66,7
5	Miracidien penetriert %	184 72,2	580 68,6	256 76,2
6	Muttersporocysten/ penetrierte Miracidien %	39 21,2	164 28,3	65 25,4
7	Muttersporocysten/ positive Schnecke	1,2	1,6	2,0
8	Miracidien-effizienz $\frac{n\text{-pos.}}{m}$	0,13	0,12	0,098

Tab. 2: Zusammenfassende Gegenüberstellung der Simultanexpositionen mit 3, 5 und 8 Miracidien (kleine Ziffern = absolute Zahlen)

Der durchschnittliche Infektionserfolg eines Miracidiums, errechnet nach einer von Dönges (1974) eingeführten Gleichung, unterscheidet sich bei den hier verwendeten Miracidiendosen nicht von dem Quotienten aus gefundenen Muttersporocystenzahlen und Anzahl eingesetzter Miracidien.
Die prozentualen Häufigkeitsverteilungen der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten unterscheiden sich bei verschiedenen Miracidiendosen im Verlauf deutlich voneinander (Abb. 17, Abb. 18, Abb. 19). Je kleiner die Miracidiendosis war, desto steiler erscheint der Abfall der einzelnen Verteilungskurven. Bei geringeren Dosen wurden, entsprechend der geringeren Befallsrate, mehr Schnecken ohne Infektion gefunden. Bei keiner der hier verwendeten Dosis starb eine Schnecke vor der Präparation 13 d.p.i.; ebenso trug kein Tier die Höchstzahl möglicher Muttersporocysten.

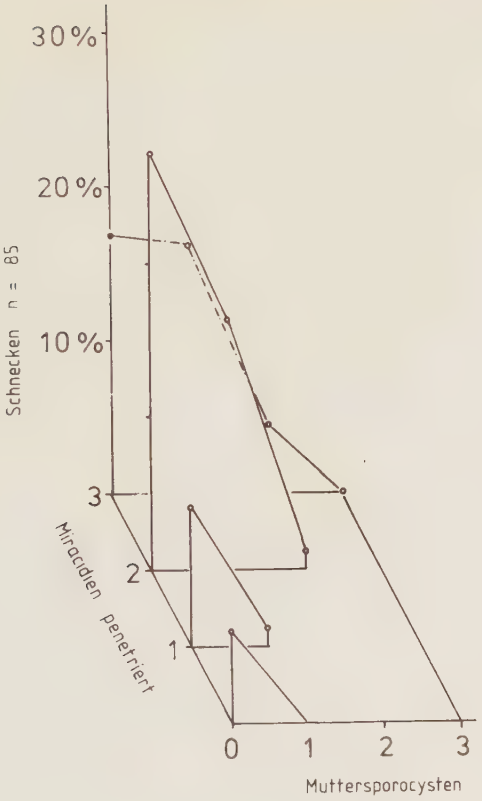


Abb. 17: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach Simultanexposition mit 3 Schistosoma mansoni-Miracidien nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten

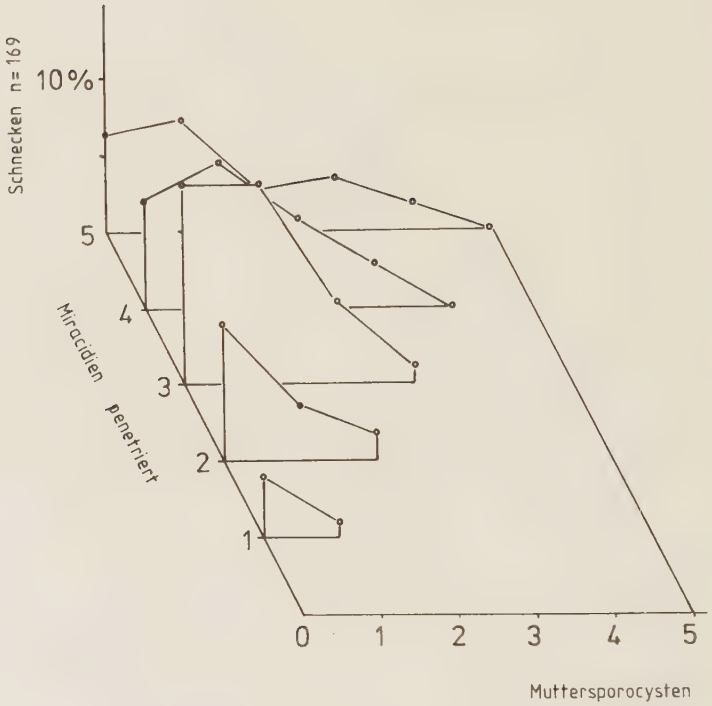


Abb. 18: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach Simultanexposition mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten

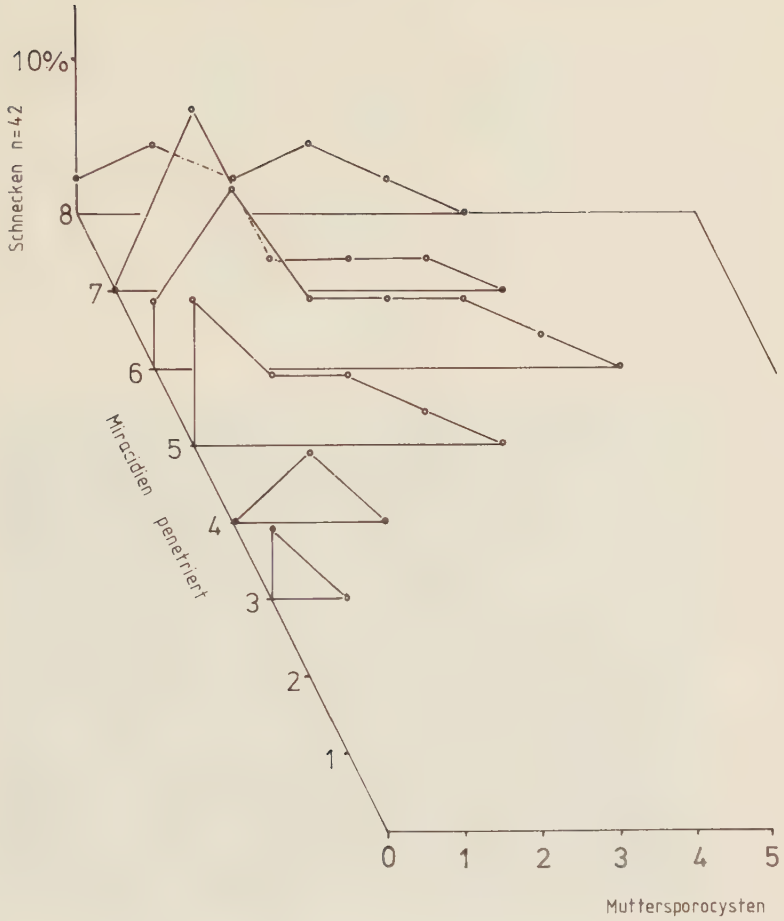


Abb. 19: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach Simultanexposition von 8 Schistosoma mansoni-Miracidien nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten

3.4.2. Wachstum nach Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien

Die Muttersporocysten waren nach der Pentobarbitalbehandlung in dem dadurch aufgeblähten Fuß der Schnecke deutlich als weiße Bereiche zu erkennen (Abb. 20).
Etwa 70 % der eingesetzten Miracidien waren mit der Penetration erfolgreich, wobei sich nur 1/3 der Penetrierten zur Muttersporocyste entwickelte (Abb. 21, vgl. Abb. 1).
Bei Beendigung der Versuche fielen mir die im Vergleich zu gesunden Schnecken deutlich kleineren Eizahlen je Gelege auf.

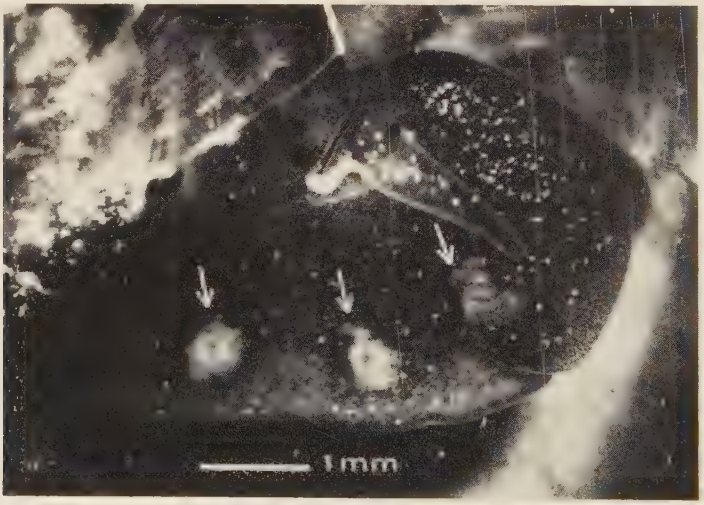


Abb. 20: 3 Muttersporocysten (Pfeile) von Schistosoma mansoni in einer mit Pentobarbital eingeschläferten Biomphalaria glabrata 13 d.p.i. (Der Fuß erfuhr durch die erhöhte Wasseraufnahme eine vorübergehende Deformation)

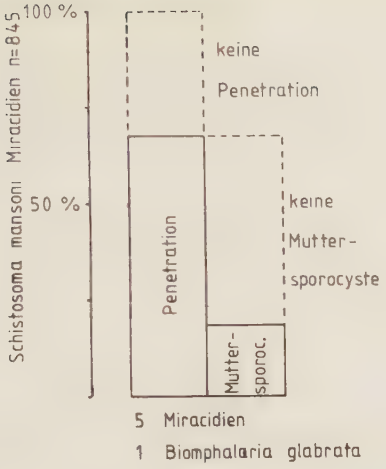


Abb. 21: Penetrations- und Entwicklungserfolg der Schistosoma mansoni-Miracidien nach Exposition von Biomphalaria glabrata mit 5 Miracidien

Der Gehäusedurchmesser der exponierten Schnecken (13 d.p.i.) zeigte einen leichten Trend zur Zunahme mit der Anzahl Muttersporocysten (Tab. 3):

Anzahl Muttersporocysten	Gehäusedurchmesser (mm) $\tilde{x} \pm$ s.d.	Anzahl Schnecken
0	7,1 ± 1,1	64
1	7,6 ± 1,1	60
2	7,3 ± 1,1	26
3	7,7 ± 1,1	13
4	8,0 ± 1,0	3
5	---	0

Tab. 3: Gehäusedurchmesser der von Schistosoma mansoni-Miracidien penetrierten Biomphalaria glabrata (13 d.p.i.) nach der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten (n = 166)

Die bei der Infektion negativ gebliebenen Tiere (n = 64), also solche, die zwar von Miracidien penetriert worden waren, aber keine Muttersporocyste trugen, haben einen signifikant (t-Test $p < 0,05$) kleineren Gehäusedurchmesser, als die 1 bis 4 Muttersporocysten tragenden Schnecken (n = 102).

Beide Gruppen bleiben jedoch deutlich ($p < 0,05$) im Wachstum hinter nie exponierten Kontrollschnecken zurück (Tab. 4, Abb. 22).

	Gehäusedurchmesser (mm) $\bar{x} \pm$ s.d.	Anzahl Schnecken
gesunde, nicht exponierte Kontrollschnecken	$8,2 \pm 1,1$	50
positive (1-4 Muttersporocysten tragende Schnecken)	$7,5 \pm 1,1$	102
negativ gebliebene	$7,1 \pm 1,1$	64

Tab. 4: Gehäusedurchmesser negativer und positiver Biomphalaria glabrata-Schnecken 13 Tage nach der Exposition mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien und Kontrollschnecken gleicher Ausgangsgröße

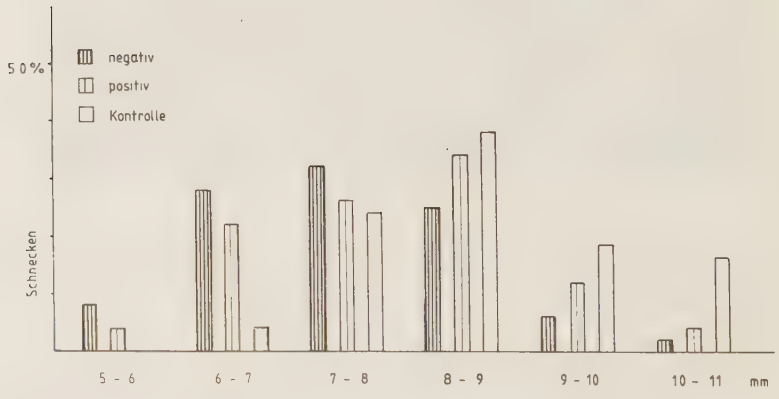


Abb. 22: Anteile der penetriert negativen (n = 64), muttersporocystentragenden (penetriert positiv, n = 102) und der nicht exponierten Kontrollschnecken (n = 50) an den Größenklassen

3.4.3. Lage der Muttersporocysten

Die in den 5 Miracidien exponierten Schnecken (simultan bis 1-Tagesintervall, n = 615) gefundenen Muttersporocysten verteilen sich auf dem Schneckenkörper wie in Tab. 5 (Zeile 1-4) dargestellt.

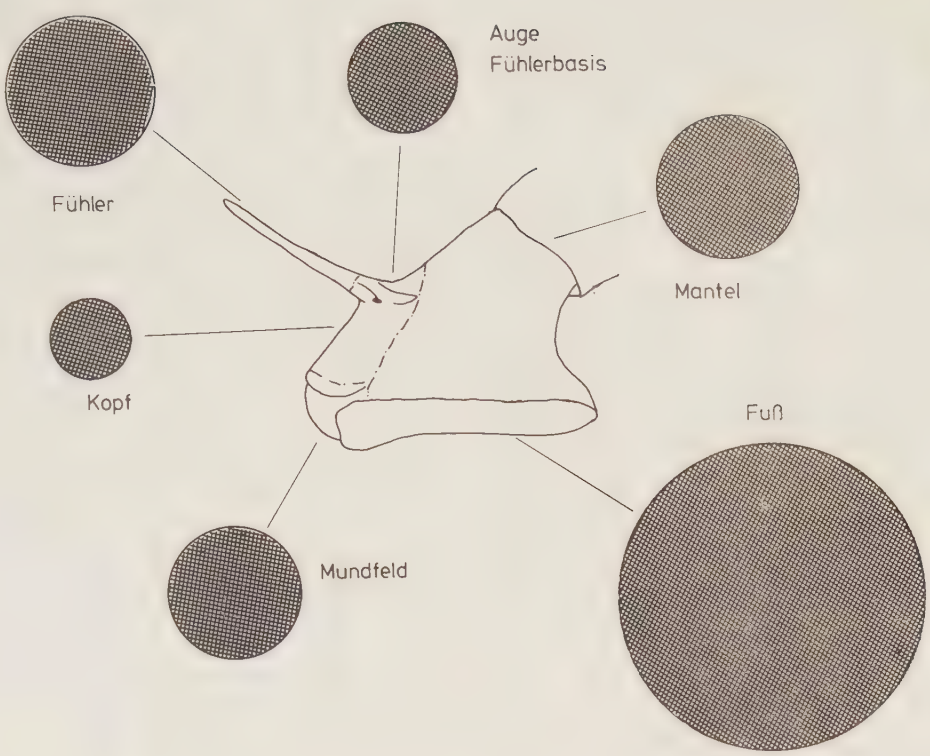
Die Gabe der 5 Miracidien bis zum Intervall von einem Tag hatte keinen Einfluß auf die Verteilung der Muttersporocysten. Daher faßte ich diese Ergebnisse in Abbildung 23 zusammen.

Etwa gleich viele Muttersporocysten fand ich im Mantelrand, Mundfeld und Fühler, symbolisiert durch die Größe der Kreisflächen (Abb. 23, Tab. 5, Zeile 5). Die meisten Muttersporocysten fand ich im - flächenmäßig natürlich dominierenden Fußteil - dort sowohl peripher, als auch weiter innen im Gewebe.
Nur 3,8 % aller Sporocysten waren im Kopfteil zu finden.
Eine positive Schnecke (n = 373) trug nach der Exposition mit je 5 Miracidien durchschnittlich 1,7 Muttersporocysten (s.o.).

Bei Intervallen von 3 Tagen waren einige Muttersporocysten schon abgebaut (s.u.), was sich in einer anderen Verteilung der Muttersporocysten niederschlug (Tab. 5, Zeile 6).

		Muttersporocysten %						
		Fuß	Kopf	Fühlerbasis	Fühler	Mantelrand	Mundfeld	Pseudokieme
1	simultan n = 164	87 53,1	5 3,1	8 4,9	24 14,6	14 8,5	25 15,2	1 0,6
2	1/2 h n = 158	91 57,5	3 1,9	14 8,9	15 9,5	16 10,1	17 10,8	2 1,3
3	1 h n = 161	80 49,7	8 5,0	12 7,5	19 11,8	18 11,2	16 9,9	8 4,9
4	1 d n = 132	73 55,3	7 5,3	10 7,6	13 9,8	17 12,9	11 8,3	1 0,8
5	Summe n = 615	331 53,8	23 3,7	44 7,2	71 11,5	65 10,6	69 11,2	12 1,9
6	3d n = 58	43 74,1	0 0	3 5,2	6 10,2	2 3,5	2 3,5	2 3,5

Tab. 5: Prozentuale und absolute (kleine Ziffern) Verteilung der Schistosoma mansoni-Muttersporocysten in Biomphalaria glabrata nach simultaner (in 169) und gestaffelter Exposition von 5 Miracidien mit halbstündigen (in 143), einstündigen (in 154), eintägigen (in 144) und dreitägigen (in 88 Tieren) Intervallen



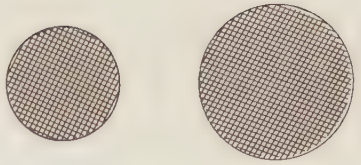


Abb. 23: Verteilung der Schistosoma mansoni-Muttersporocysten (n = 615) in Biomphalaria glabrata (n = 373) nach Exposition mit je 5 Miracidien. Zusammengefaßt, ausgenommen 3-tägige Zeitintervalle (s. Tab. 5)

3.5. Versuch D

3.5.1. Exposition einer Biomphalaria glabrata mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien in verschiedenen Zeitintervallen (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d)

Die Infektionsraten sind bei quinquemiracidiellen Expositionen bis zum Zeitintervall von 1 h gleich. Der bei 3-tägigen Intervallen gefundene Prozentsatz muttersporocystentragender Schnecken entspricht nicht der Infektionsrate, da ich Tiere fand, deren Mitteldarmdrüse von Tochtersporocysten parasitiert, die Muttersporocysten jedoch nicht mehr im Fußgewebe zu sehen waren. Mehrfach infizierte Schnecken, also solche mit 2 bis 4 Muttersporocysten, waren bei kürzeren Zeitintervallen (simultan bis 1 h) signifikant häufiger zu finden, als bei längeren Pausen zwischen den Miracidiengaben (χ^2-Test: $p < 0,05$; Tab. 6, Tab. 9).

Biomphalaria glabrata %

Muttersporocysten 13 d.p.i.	simultan n = 169	1/2 h n = 143	1 h n = 154	1 d n = 144	3 d n = 88
0	67 39,7	51 35,7	61 39,6	58 40,3	43 48,9
1	59 34,9	50 34,9	44 28,6	57 39,6	34 38,6
2	27 15,9	24 16,8	32 20,8	15 10,4	9 10,2
3	13 7,7	12 8,4	15 9,7	11 7,6	2 2,3
4	3 1,8	6 4,2	2 1,3	3 2,1	0 0
5	0	0	0	0	0

Tab. 6: Prozentuale und absolute (kleine Ziffern) Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten 13 d.p.i. nach simultaner, halbstündig, einstündig, eintägig und dreitägig gestaffelter Exposition mit je 5 Schistosoma mansoni-Miracidien

Penetrationserfolg:

Bei keinem der Zeitintervalle konnte ein signifikant abnehmender Penetrationserfolg vom ersten bis zum fünften Miracidium gefunden werden (Tab. 7). Das letzte Miracidium hatte die gleiche Penetrationschance wie das erste.
Der durchschnittliche Penetrationserfolg steigt mit längeren Zeitintervallen leicht an (Tab. 9, Zeile 5). Bei längeren Zeitintervallen penetrierten signifikant mehr (X^2-Test: $p < 0,01$) als bei Simultanexposition.
Bei der Simultanexposition wurden am häufigsten Schnecken gefunden, die von 3 Miracidien penetriert worden waren. In allen anderen Zeitintervallen wurden die meisten Schnecken von 4 Miracidien penetriert (Tab. 8).

Schistosoma mansoni Miracidien penetriert %

	1.	2.	3.	4.	5.
simultan m = 845	580 68,6	/	/	/	/
1/2 h m = 715	107 74,8	105 73,3	98 68,5	101 70,6	104 72,7
1h m = 770	119 77,3	119 77,3	118 76,6	117 75,9	111 72,1
1d m = 720	107 74,3	113 78,4	118 81,9	117 81,2	106 73,6
3d m = 440	68 77,3	69 78,4	72 81,8	72 81,8	72 81,8

Tab. 7: Prozentualer Penetrationserfolg des 1., 2., 3., 4. und 5. Schistosoma mansoni-Miracidiums in Biomphalaria glabrata bei simultaner und gestaffelter Exposition mit halbstündigen, einstündigen, eintägigen und dreitägigen Intervallen

Biomphalaria glabrata %

Miracidien penetriert	simultan n = 169	1/2 h n = 143	1 h n = 154	1 d n = 144	3 d n = 88
0	0	2 1,4	1 0,7	0	0
1	10 5,9	5 3,5	2 1,4	3 2,0	2 2,3
2	24 14,2	19 13,3	15 9,7	8 5,6	3 3,4
3	55 32,6	27 18,9	34 22,1	35 24,3	15 17,0
4	43 25,4	59 41,3	58 37,6	53 36,8	40 45,5
5	37 21,9	31 21,6	44 28,5	45 31,3	28 31,8

Tab. 8: Prozentuale und absolute (kleine Ziffern) Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach der Anzahl penetrierter Miracidien nach simultaner, halbstündig, einstündig, eintägig und dreitägig gestaffelter Exposition mit je 5 Schistosoma mansoni-Miracidien (**Maxima unterstrichen**)

Der Entwicklungserfolg der Miracidien (Tab. 9, Zeile 6), die 13 Tage nach der Infektion als Muttersporocyste zu sehen waren, nahm bei längeren Zeitintervallen ab.
Die durchschnittliche Zahl der Muttersporocysten in positiven Schnecken ist bei kurzen Intervallen annähernd gleich.
Die in 3-tägigen Intervallen exponierten Schnecken trugen bei der Präparation nur noch 1,3 Muttersporocysten, bedingt durch den offensichtlichen Abbau älterer Muttersporocysten (3.5.2.). Keine Schnecke trug die Höchstzahl möglicher Muttersporocysten.

	5 S. mansoni Miracidien 1 B.glabrata	simultan	1/2 h	1h	1 d	3 d
1	Biomphalaria glabrata n	169	143	154	144	88
2	Schistosoma mansoni Miracidien m	845	715	770	720	440
3	B glabrata mit Muttersporocysten 13dp.	102	92	93	86	45
	%	60,3	64,3	60,4	59,7	51,1
4	Mehrfachinfektionen/ positive Schnecken %	43	42	49	29	11
		42,2	45,7	52,7	33,7	24,7
5	Miracidien penetriert	580	515	584	561	353
	%	68,6	72,0	75,8	77,9	80,2
6	Muttersporocysten/ penetrierte Miracidien	164	158	161	132	58
	%	28,3	30,7	27,5	23,5	16,4
7	Muttersporocysten/ positive Schnecke	1,6	1,7	1,7	1,5	1,3

Tab. 9: Zusammenfassende Gegenüberstellung der zeitlich gestaffelten (simultan, 1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d) Expositionen mit insgesamt 5 Schistosoma mansoni-Miracidien je 1 Biomphalaria glabrata

Die die Anzahl penetrierter Schnecken beschreibenden Verteilungen stimmen, außer bei simultan- und halbstündig gestaffelter Exposition, nicht mit einer Binomialverteilung überein (Abb. 24 a-e).

Nur bei 3-tägigem Intervall folgt die Muttersporocystenlast einer Binomialverteilung (Abb. 25 a-e).

Die Verteilungen nach der prozentualen Häufigkeit verlaufen bei Kurzzeitintervallen (Abb. 18, Abb. 26a, b) noch annähernd gleich. Je steiler der Abfall der einzelnen Kurven nach der 1-Muttersporocystenmarke war, desto weniger Mehrfachinfektionen traten bei den Schnecken auf; das bedeutet weniger Muttersporocysten.

Dies ist bei den Langzeitintervallen der Fall (Abb. 27a, b).

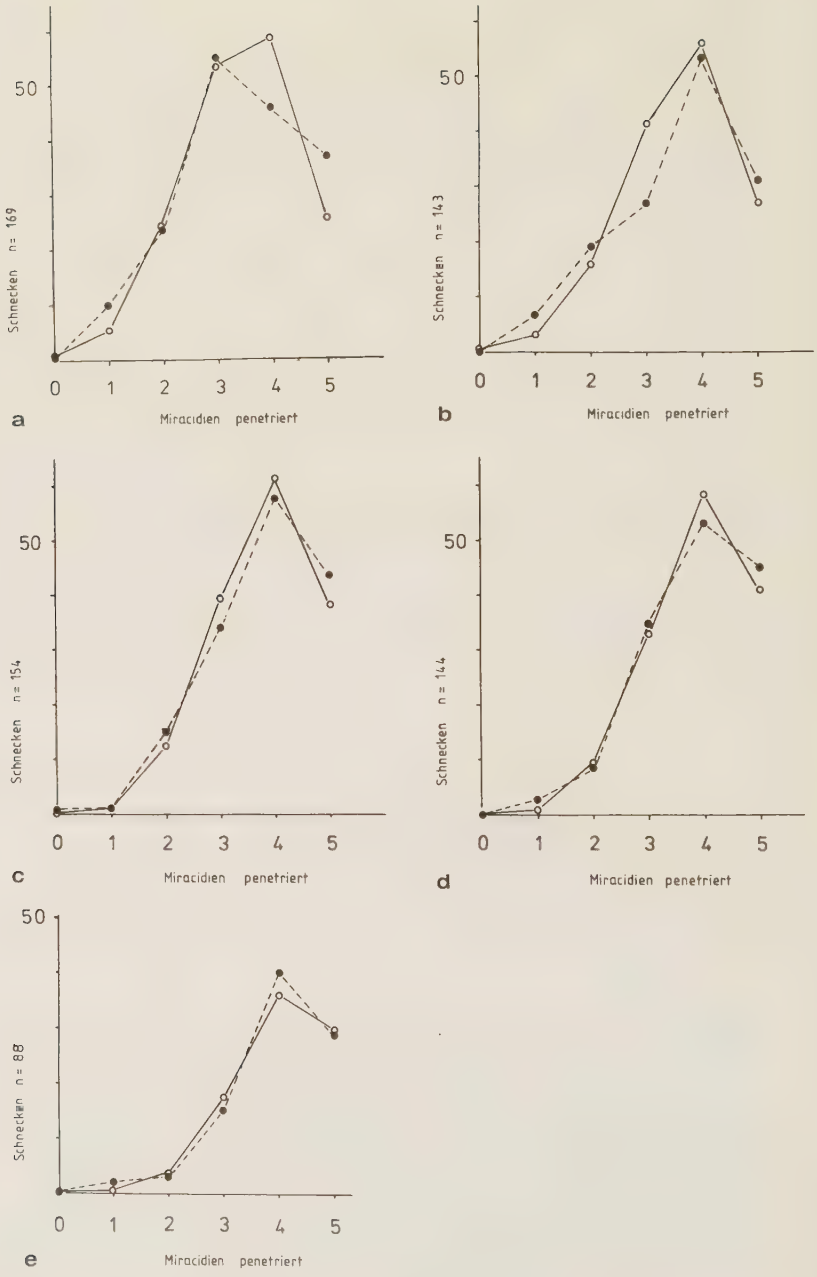


Abb. 24: Häufigkeitsverteilung der von 0 bis 5 Schistosoma mansoni-Miracidien penetrierten Biomphalaria glabrata-Schnecken nach Simultan (a), halbstündig (b), einstündig (c), eintägig (d) und dreitägig (e) gestaffelter Exposition (●-----●).

Berechnete Binomialverteilung (o——o)

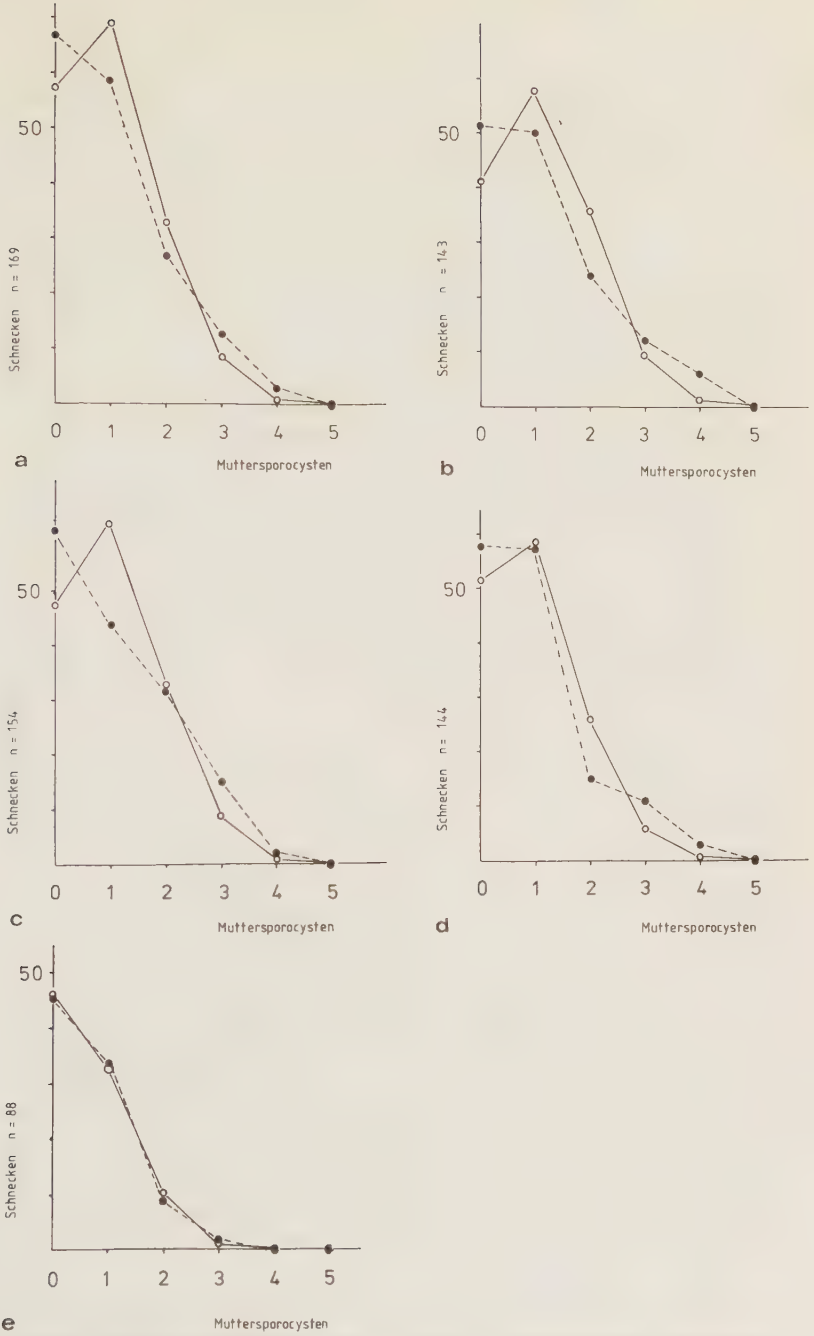


Abb. 25: Häufigkeitsverteilung der 0 bis 5 Schistosoma mansoni-Muttersporocysten tragenden Biomphalaria glabrata-Schnecken nach Simultan (a), halbstündig (b), einstündig (c), eintägig (d) und dreitägig (e) gestaffelter Exposition (•-----•).
Berechnete Binomialverteilung (o——o)

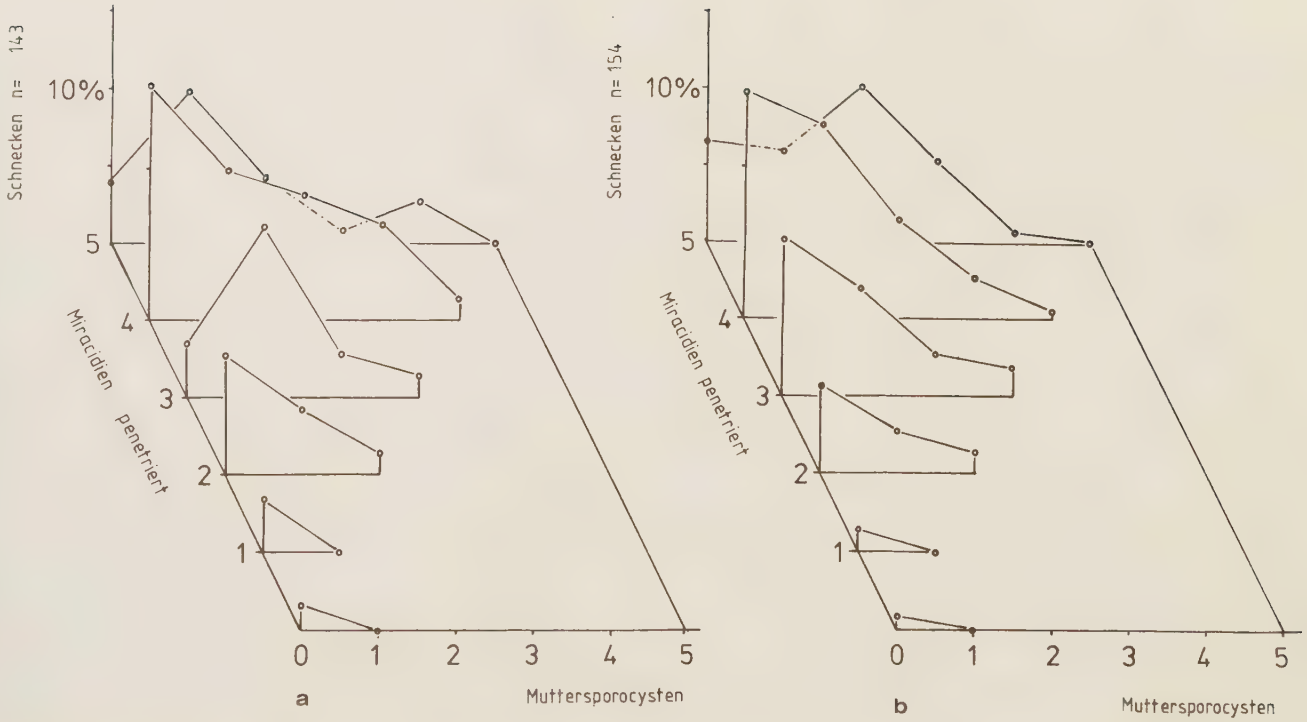


Abb. 26: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach halb- (a) und einstündig (b) gestaffelter Exposition (Kurzzeitintervalle) mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten

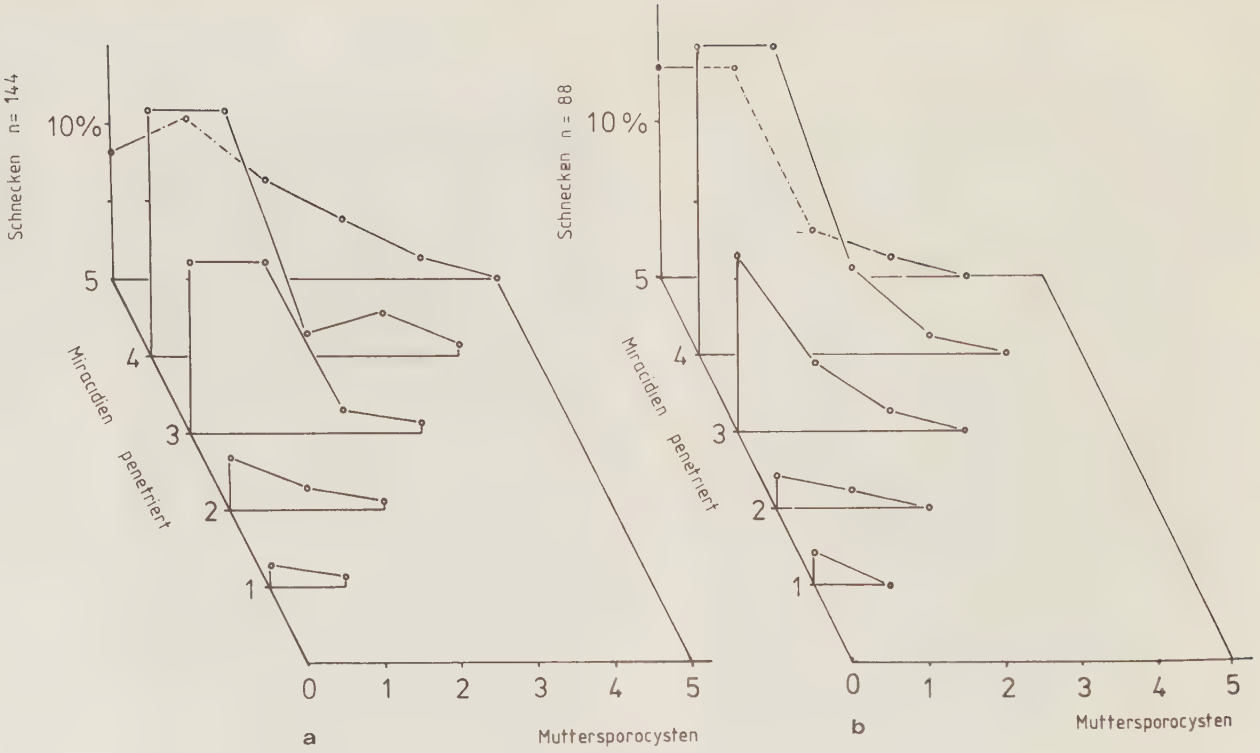


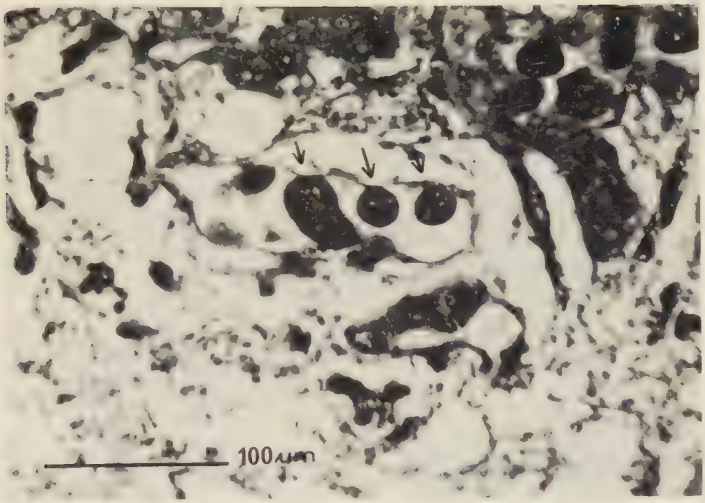
Abb. 27: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Biomphalaria glabrata-Schnecken nach ein- (a) und dreitägig (b) gestaffelter Exposition (Langzeitintervalle) mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien nach der Anzahl penetrierter Miracidien und der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten

3.5.2. Histologische Befunde an den in 3-tägigen Intervallen infizierten Biomphalaria glabrata-Schnecken

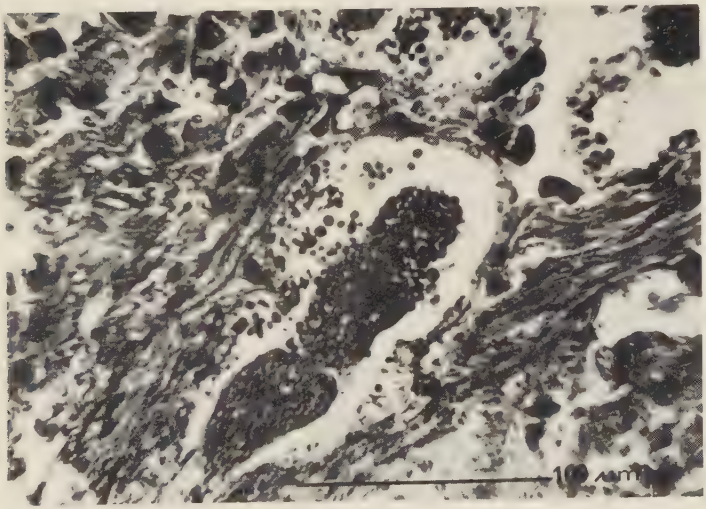
Bei der Präparation der in 3 Tagesintervallen infizierten Schnecken fand ich einzelne Tiere mit schwacher Parasitierung der Mitteldarmdrüse, jedoch ohne Muttersporocysten. In einer Schnecke war eine Muttersporocyste bei der Gabe des letzten Miracidiums, also 12 Tage nach der ersten Exposition, im Fuß gut zu erkennen, konnte aber an derselben Stelle 13 Tage später nicht mehr gefunden werden. Diese Schnecke trug allerdings Tochtersporocysten in der Mitteldarmdrüse.

In histologischen Präparaten konnte ich im Fußgewebe Muttersporocysten mit deutlichen Abbauerscheinungen finden (Abb. 27a, b).
Die Pericardwand, der Bildungsort der Abwehrzellen, und das zur Mantelhöhle anschließende Epithel liegen bei gesunden Schnecken dicht nebeneinander (Abb. 28).
Die Pericardwand der Tiere dieser Versuchsreihe ist deutlich vom anschließenden Epithel getrennt. Ein eindeutiger Zwischenraum ist sichtbar, der entweder zum Teil optisch leer (Abb. 29) oder mit Zellanhäufungen angefüllt sein kann (Abb. 30).
Die Zahl der penetrierten, aber nicht als Muttersporocyste wiedergefundenen Miracidien läßt sich mit der Dicke des amoebocytenproduzierenden Organs (das im folgenden nach seinem Entdecker, Kian Joe Lie, "Lie'sches Organ", genannt wird) nicht korrelieren.

Die ursprüngliche Form, wie sie eine gleichaltrige Muttersporocyste sonst hat (vgl. Abb. 10), ist nicht mehr zu erkennen. Die Tochtersporocysten erscheinen hier nur vereinzelt im Fußgewebe und sind zum Teil von Abwehrzellen umgeben.



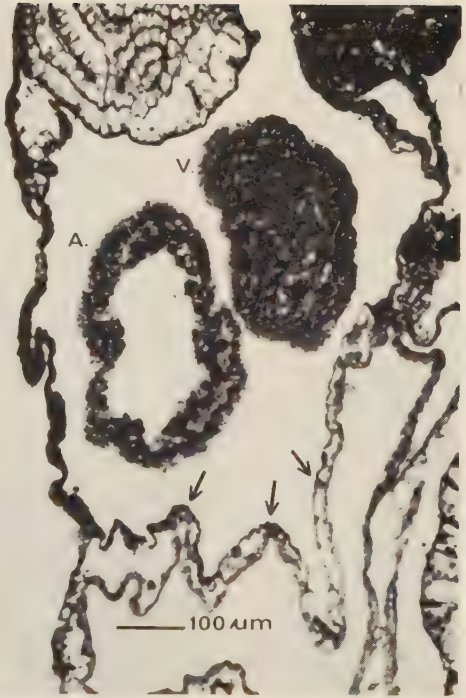
a



b

Abb. 27a, b: Abbau- und Degenerationserscheinungen an Muttersporocysten von Schistosoma mansoni in Biomphalaria glabrata
(Pfeile: Tochtersporocysten)

28



29

30

Abb. 28 - 30: Amoebocytenproduzierendes Organ an der Pericardwand von Biomphalaria glabrata im nicht aktiven (Abb. 28 Kontrolle) schwach aktiven (Abb. 29) und stark aktiven (Abb. 30) Zustand nach 3-tägig gestaffelter Exposition mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien.
(Pfeile: Amoebocytenanhäufung, A.: Aurikel, V.: Ventrikel)

4. Diskussion

4.1. Versuch A

Die in Versuchsteil A erhaltene Infektionsrate von 27,5 % stimmt mit den bei unimiracidiellen Infektionen bei Biomphalaria glabrata beschriebenen gut überein (Stirewalt 1951: 32,5 %; 1954: 27 %; Chernin 1968: 24 %, aber Schreiber et al. 1949a: 8 %; 1949b: 14 %).
Obwohl die Autoren bei ähnlichen Temperaturen (25° C bis 27° C) mit längeren Expositionszeiten arbeiteten (Chernin bis zu 24 h; Stirewalt bis zu 18 h), unterscheiden sich die Infektionsraten nicht deutlich von meinen für 30-minütige Exposition.

Die von mir gefundene Penetrationsrate der Miracidien ist, bedingt durch die während der Beobachtung benutzte seitliche Beleuchtung, mit 54 % niedriger, als bei den Vorversuchen und normalem Lichteinfall. Hier lag der Anteil der Miracidien, die penetrierten, bei 76 % (Vorversuch 1). Chernin et al. (1975) gaben den Anteil nicht penetrierender Miracidien mit 30 % an.
Lichtstreuungen und das positiv phototaktische Verhalten der Miracidien (Upatham 1972; Chernin et al. 1962) sind für die niedrigeren Penetrationserfolge in Versuch A verantwortlich. Hier stört wahrscheinlich der seitliche Lichteinfall, der Miracidien unter Umständen von der Schnecke wegschwimmen läßt.

Während der Beobachtung der einzelnen Miracidien-Schneckenpaare fiel mir auf, daß Penetrationsversuche an unterschiedlichen Bereichen des Molluskenkörpers nicht in gleichem Maße zum Erfolg führten und dementsprechend länger dauerten (Abb. 6, Tab. 1).
Penetrationsversuche am Kopf wurden häufiger abgebrochen als am Fußteil oder an anderen Bereichen der Schnecke. Ebenso erschien die Penetration an der Fühlerbasis durch verschiedene Faktoren behindert:

- Die Schnecke versuchte das Miracidium während der Penetrationsversuche durch ruckartiges Herunterziehen des Gehäuses zu behindern (Faust et al. 1934; Richards 1977) oder abzustreifen. Am effektivsten ist diese Aktion an der Kopffront.
  Häufiger kann diese Reaktion jedoch während der Exposition mit mehreren Miracidien beobachtet werden.
- Einen weiteren mechanischen Störfaktor stellen die Bewegungen des Buccalapparates dar, der beim Abweiden des Untergrunds von innen gegen das Kopfdach stößt.
- Sehr selten konnte ich eine Art chemische Abwehr durch Ausstoß von Hämolymphe beobachten, womit Planorbiden bei Belästigung zu reagieren pflegen (v. Salvini-Plawen 1979).

Eine im Vergleich zum Fuß längere Penetrationszeit am Kopf muß ebenfalls hauptsächlich auf mechanische Störungen zurückgeführt werden, da ich keine Unterschiede in der Epidermisdicke fand.
Die Penetration an der Fußseite hingegen erscheint für das einzelne Miracidium als relativ leicht. Nicht nur, daß dieser Bereich den Aktionen des Gehäuserandes keine Angriffsmöglichkeit bietet, sondern die Schnecke scheint Penetrationsversuche einzelner Miracidien an dieser Stelle auch nicht einmal als störend wahrzunehmen.
Der Penetrationserfolg an anderen Bereichen der Schnecke ist etwa vergleichbar mit dem an der Fußseite. Eine Ausnahme bildet die Fühlerbasis, die ebenso den Gehäusebewegungen ausgesetzt ist und seltener penetriert wird (Tab. 1). Ist ein Miracidium erst einmal eingedrungen, was sich an unterschiedlichen Stellen als unterschiedlich schwierig erweist, so entwickelt sich die Hälfte weiter und zwar unabhängig vom Penetrationsort.
Eine äußere Barriere, dargestellt durch den verminderten Penetrationserfolg, ist bei unimiracidiellen Expositionen für die verschiedenen Körperbereiche unterschiedlich, während eine innere, dargestellt durch den Infektionserfolg, immer gleich wirksam ist. Es entwickelt sich, unabhängig vom Pe-

netrationsort, je die Hälfte der eingedrungenen Miracidien bis zum Cercarienausstoß (Abb. 6). Der erste zufällige Kontakt entscheidet auf dem Weg über den Penetrationsort, also letztlich mit über den Infektionserfolg.

Lutz (1919) beschrieb die Tentakel als Prädilektionsstelle an Planorbis für die Penetration von Trematoden-Miracidien und nahm an, daß alle Miracidien, die an anderen Stellen einzudringen versuchten, scheiterten und anschließend stürben. Muttersporocysten wurden von Lutz nie an anderen Stellen der Schnecken gefunden. Die Penetrationszeit wurde von ihm mit 10 bis 15 Minuten angegeben (in meinen Versuchen: ca. 6' - Tab. 1); zum Vergleich die Penetrationszeit eines Fasciola hepatica-Miracidiums an Galba truncatula: ca. 1/2 h nach Mattes, 1949).

Faust et al. (1934) hingegen hielten die Penetrationswahrscheinlichkeit der Miracidien für größer, wenn sie in der Mantelhöhle einzudringen suchten. Einige versuchten es allerdings auch im Kopf-Fußbereich.
Die ersten Muttersporocysten fanden die Experimentatoren nur durch Präparation, während Wajdi (1966) die Muttersporocysten als von außen sichtbares geschwürartiges Gebilde beschrieb (vgl.: Versuch C, Abb. 20). Pan (1965) fand die ersten Sporocysten schon 5 d.p.i.

Miracidien, die ihre Wirte durch Chemokinese finden (Wright 1971; Saladin 1979), führen ihre ersten Penetrationsversuche nahe der Stelle des ersten zufälligen Kontakts mit der Schnecke aus.
Die Dauer vom Versuchsbeginn bis zum Beginn des ersten Penetrationsversuchs kann man als Maß für die Attraktivität der Schnecke heranziehen, wie es auch Wajdi (1964) an verschiedenen Bulinus-Arten machte.
Biomphalaria glabrata veranlaßt die meisten Miracidien in meinen Versuchen 4 bis 6 Minuten nach Versuchsbeginn zum ersten Penetrationsversuch, während an der Schlammschnecke Stagnicola elodes die meisten Schistosoma mansoni-Miracidien

erst nach 8 bis 12 Minuten ansetzen (Kastenholz et al., 1982). Dies bestätigt die dort durch SCW- (snail-conditioned-water) Versuche ermittelte Attraktivitätsabstufung dieser beiden Schneckenarten.

Nicht nur der Penetrationsort, sondern auch die Anzahl und Dauer vorangegangener vergeblicher Penetrationsversuche an Biomphalaria glabrata sind für den Penetrationserfolg und somit auch für den Infektionserfolg eines Miracidiums ausschlaggebend (Abb. 7, Abb. 8).
Ein Miracidium mit 3 oder mehr erfolglosen Penetrationsversuchen ist deutlich in seiner Penetrations- und Entwicklungsfähigkeit beeinträchtigt.
Neben einem Energieverlust wird bei erfolglosen Penetrationsversuchen vielleicht auch ein Teil des Penetrationsdrüseninhalts aufgebraucht.

Der Ablauf eines Penetrationsversuches am adäquaten Zwischenwirt dürfte sich von dem am nicht-adäquaten unterscheiden, da erfolglose Penetrationsversuche an der Schlammschnecke Stagnicola elodes die Infektiosität der Miracidien für Biomphalaria glabrata nicht signifikant beeinträchtigen (Kastenholz et al., 1982). Die Dauer der abgebrochenen Penetrationsversuche an Biomphalaria glabrata und an Stagnicola elodes unterscheidet sich allerdings nicht voneinander (Abb. 5).
Diese Tatsachen deuten darauf hin, daß der erste Teil eines Penetrationsversuchs noch relativ unspezifisch abläuft.
Das Miracidium bricht den Penetrationsversuch entweder aufgrund des Abwehrverhaltens der Schnecke oder spontan ab und zwar am adäquaten Zwischenwirt und an der Schlammschnekke nach gleicher Zeit.
Unterschiedliche Beschaffenheit der Epidermis oder Schnekkenausscheidungen könnten das Miracidium zum Abbruch oder zur Fortsetzung des Penetrationsversuchs veranlassen. Der Einfluß der Epidermissekrete auf den Verlauf des Penetrationsvorgangs kann sogar so weit gehen, daß Miracidien durch diese getötet werden, so beschrieben an Helisoma caribaeum durch Chernin (1969).

4.2. Versuch B

Nach dem Eindringen verbleiben nicht alle Miracidien am Ort der Penetration, sondern wandern in einigen Fällen zunächst einmal für kurze Zeit. Während sich meine Beobachtungen mit denen von Pan (1965) decken, hielten Gordon et al. (1934) eine Wanderung der Miracidien noch 7 bis 10 Tage nach der Penetration für möglich.

Die Wanderungen in der Schnecke gehen offensichtlich vom Kopfteil in Richtung Fußbasis oder Mundfeld (Abb. 9). Die andernorts störenden Bewegungen des Buccalapparates dürften wohl die Hauptursache hierfür sein.
Nur kurz nach der Penetration sind die Miracidien noch zu Kriechbewegungen befähigt, da sich nach Dusanic et al. (1963) die relative Konzentration freier Aminosäuren in der Hämolymphe innerhalb einer Stunde nach der Penetration in der Schnecke ändert und dadurch angeblich die Bewegungsfähigkeit der Miracidien beeinträchtigt.
Über die Änderung des Protein- und Aminosäuregehalts der Hämolymphe und im Extrakt von mit Schistosoma mansoni-infizierten Schnecken wurde auch von Benex et al. (1959) und Michelson et al. (1975a) berichtet.

Durch die Abwanderung der Miracidien aus dem Buccalbereich findet man nur noch sehr wenige Muttersporocysten im Kopf.

Der Kopfteil trägt nur 3,8 % aller Muttersporocysten (Tab. 5, Abb. 23), 53,8 % befinden sich hingegen im Fußgewebe, der Rest in etwa gleichen Teilen im Fühler, Mantelrand und Mundfeld. Kinoti (1971) fand, daß in für Schistosoma matthei empfänglichen Bulinus africanus-Muttersporocysten nur im lockeren Kopf-/Fußgewebe zur Entwicklung gelangten.

Die Verteilung der Muttersporocysten im Schneckenkörper wurde auch von Olivier et al. (1949) und Pan (1965) beschrieben, jedoch unterschieden die Autoren nicht zwischen Kopf- und Fußbereich. Chernin et al. (1962) fanden durch Quetsch-

präparation 86 % der Muttersporocysten im Kopf-/Fußbereich, den Rest im Mantel. Bei der Auswertung meiner Präparationen nach Chernin's System würde ich etwa 10 % der Sporocysten im Mantel und 90 % im Kopf-/Fußbereich finden. Trotz der Übereinstimmung der Daten halte ich eine differenziertere Angabe der Muttersporocystenverteilung für angebracht.

Bei der Präparation der nur mit einem Miracidium infizierten Schnecken des Versuchsteils B fand ich sogar noch 9 Wochen nach der Infektion tochtersporocystentragende Muttersporocysten. Pan (1965) fand, wohl aufgrund einer höheren Miracidiendosis, die Lebensdauer der Muttersporocysten auf 2 - 3 Wochen beschränkt.
Das mikroskopische Bild einer jungen (13 d.p.i.) und einer alten (7 Wochen p.i., ca. 50 d.p.i.) Muttersporocyste zeigt deutliche Unterschiede. Junge Muttersporocysten liegen noch deutlich als Knäuel aufgewickelt und nicht ausgestreckt vor (Olivier 1949, Pan 1965), weshalb man in histologischen Präparaten die mit Tochtersporocysten dicht angefüllten Septen vorliegen sieht (Abb. 10 und 11).
Die alten Muttersporocysten erscheinen hingegen als zum Teil optisch leere, oder nur mit wenigen Tochtersporocysten angefüllte Bereiche, was ein Ende ihrer Produktivitäts- und Lebensdauer andeutet. Da eine Muttersporocyste aber immerhin noch 9 Wochen nach der Infektion Tochtersporocysten freisetzen kann, ist sie dann natürlich auch noch in der Patenz der Schnecke produktiv.
Je nach den Haltungsbedingungen der Schnecken beginnen die ersten Tochtersporocysten zwischen dem 10ten und 15ten Tag nach der Infektion, die Muttersporocyste zu verlassen (Wajdi 1966; Becker 1968, 1970), wobei ihre Zahl allerdings keinen Anhaltspunkt für die Miracidiendosis bietet (Christie et al., 1978).
Wie Théron (1981) zeigen konnte, produzieren diese Tochtersporocysten in der Mitteldarmdrüse weitere Tochtersporocystengenerationen oder Cercarien. Tochtersporocysten aus älteren Muttersporocysten ergänzen also dann zusätzlich die Sporocystenzahl in der Mitteldarmdrüse.

An den Gehäusen infizierter Mollusken fand ich in einigen Fällen Unregelmäßigkeiten an der rechten Seite der Mündungsöffnung (Versuch B), oder auffallend dünne Schalen (Versuch C: 8 Miracidien je Schnecke). Entsprechendes wurde auch von Kelly (1899) an Unionidae, Rankin (1939), Sturrock et al. (1970) und Meier et al. (1981) an Biomphalaria glabrata beobachtet. Eine Beeinflussung des Calcium-Metabolismus (Manson-Bahr et al., 1920) durch den Parasiten ist hierbei nicht ausgeschlossen.
Man könnte nun vermuten, daß im Mantelrand gelegene Muttersporocysten das schalenbildende Epithel verletzen und dadurch die Deformation der Gehäusemündung hervorrufen. Die Schnecken, die die Muttersporocyste tatsächlich in der Mantelgegend trugen, zeigten die Deformation allerdings nicht. Außerdem müßte die anomale Schalenform schon sehr bald nach der Infektion, also noch in der Präpatenz, zu erkennen sein und nicht erst spät in der Patenz.
Man findet auch nur sehr wenige patente Schnecken, die Mündungsdeformationen aufweisen. Daher sollten Gehäusedeformationen allein nicht zur Diagnose einer bestehenden Infektion herangezogen werden.
Als Ursache für die beobachteten Deformationen kommen wohl Cercarien in Frage, die die Schnecke nach Richards (1961) im Mantelbereich verlassen.
Einige Cercarien gelangen aber auch durch eine "Cercarienembolie" (Pan 1965) ins Fußgewebe (Abb. 12). Aus diesem können sie die Schnecke in geringer Zahl verlassen, oder sie fallen der zellulären Abwehr zum Opfer. Duke (1952) und Etges et al. (1965) konnten verirrte Cercarien sogar in Eigelegen infizierter Schnecken finden.

Biomphalaria glabrata stellt unter den Schnecken bezüglich der Schalenbildung eine Ausnahme dar: sie ist die einzige Schnecke, von der die Fähigkeit zur Perlenbildung bekannt ist (Richards 1972). Es sollte untersucht werden, ob die beschriebenen Mündungsdeformationen mit einer Perlenbildung einhergehen. Außerdem wäre interessant, ob Biomphalaria glabrata auf Cercarien von Schistosoma mansoni mit Perlen-

bildung oder Mündungsdeformationen reagiert, wie sie von Mytilus edulis unter dem Einfluß abgestorbener Metacercarien von Gymnophallus bekannt ist (Jameson 1902), oder auch spontan erfolgt. Die Perlenbildung spielt bei Gastropoden allerdings als Abwehrmechanismus nur eine untergeordnete Rolle (Michelson 1975b).

4.3. Versuch C

Die Infektionsraten bei Simultanexposition mit 3 (40 %), 5 (60,3 %) oder 8 (78,6 %) Schistosoma mansoni-Miracidien je Schnecke stimmen mit den bei vergleichbarer Miracidiendosis durchgeführten Versuchen in der Literatur gut überein (Stirewalt 1951: 47,6 % bei 3/1; Stirewalt 1954: 59 % bei 5/1; DeWitt 1954: 40 % bis 50 % bei 5/1; Stirewalt 1951: 72,7 % bei 10/1).
Der Vorversuch 1 zeigt, daß die durch Präparation der Muttersporocysten gefundenen Infektionsraten mit den durch Cercarienausstoß ermittelten übereinstimmen.

Die Penetrationschance (Abb. 15) jedes einzelnen Miracidiums liegt bei der Exposition mit nur 1 Miracidium und normaler Beleuchtung höher als mit 3 oder 5 Miracidien. 1 Miracidium wird also von der Schnecke kaum als störend wahrgenommen (s.o.). Von größeren Miracidienzahlen wird die Schnecke deutlich belästigt. Sie versucht, die Miracidien bei der Penetration zu behindern. Bei der Simultanexposition mit 5 Miracidien ist diese Abwehr schon wirksam. Bei 8 Miracidien allerdings wird die Schnecke zu gleicher Zeit so vielen Attacken ausgesetzt, daß sie nicht mehr alle Miracidien erfolgreich abwehren kann. Weiterhin können mehrere Miracidien gleichzeitig penetrieren. Dabei setzen penetrierende vielleicht Gewebsflüssigkeit der Schnecke frei, die wiederum andere Miracidien anlocken könnte, wie Coil (1981) dies an Fossaria bulimoides und Fasciola magna beschrieb.

Der Verlauf der Funktion (Abb. 13) Infektionsrate/Miracidiendosis ist bei meinen Versuchen noch linear, würde aber bei höheren Miracidienzahlen asymptotisch gegen 100 % verlaufen (Schreiber et al., 1949b; Stirewalt 1951).

Die individuelle Chance eines jeden eingesetzten Miracidiums sich zur Muttersporocyste zu entwickeln, ist bei 3,5 und 8 Miracidien nicht voneinander verschieden, jedoch eindeutig geringer als bei unimiracidiellen Expositionen (Abb. 16). Dönges (1974) entwickelte eine Gleichung zur Berechnung des durchschnittlichen Infektionserfolgs eines einzelnen Miracidiums. Bei der Anwendung dieser Gleichung auf meine mit 3, 5 und 8 Miracidien je Schnecke gefundenen Daten stimmen die errechneten Werte mit meinen, durch Präparation ermittelten, überein. Dies wäre also ein experimenteller Beweis für die Berechtigung ihrer Anwendung auf meine Experimente.

Auch Chu et al. (1966) halten die Entwicklungswahrscheinlichkeit ("average probability of successful miracidia") eines Schistosoma haematobium-Miracidiums bei geringeren Miracidiendosen für größer.
Ein einzelnes penetriertes Miracidium hat größere Chancen sich zu entwickeln, da es nicht mit Individuen der gleichen Art konkurrieren muß, ein etwaiger crowding-effect auf dem Muttersporocystenstadium nicht auftreten kann und keine bereits manifestierte Infektion die Schnecke zu Abwehrreaktionen zellulärer oder humoraler Art veranlassen können (Tripp 1963, 1970; Maramorosch & Shope 1975). Interspezifische Verdrängung innerhalb einer Schnecke ist zum Beispiel zahlreich in der Literatur dargestellt (Ewers 1960; Lie et al., 1965, 1968a, b). Einmal könnte die erste penetrierte Trematodenart die Infizierbarkeit der Schnecke für die folgende reduzieren, oder Redien der einen Art können Sporocysten einer anderen auffressen.

Dem Befund, daß der Prozentsatz der sich zur Muttersporocyste entwickelnden Miracidien für Dosen größer als 1 offensichtlich gleich bleibt, kann man die berechnete Miracidien-

effizienz (verändert nach Lo 1972) gegenüberstellen (Tab. 2, Zeile 8), die - sowohl bei mir als auch bei ihm - mit zunehmender Dosis abnimmt.
Der von ihm ursprünglich vorgeschlagene Wert, der Quotient aus Anzahl eingesetzter Miracidien und Anzahl positiver Schnecken nimmt mit zunehmender Miracidiendosis allerdings zu. Nach Lo (1972) bedeutet das, daß bei zunehmender Miracidiendosis zunehmend mehr Miracidien nötig sind, um eine infizierte Schnecke zu erhalten. Dabei wird jedoch nicht beachtet, daß mit zunehmender Miracidiendosis (bis 8/1) die Zahl der mehrfach infizierten Schnecken linear ansteigt (Abb. 14). Da bei den Schistosomen ein Miracidium schließlich zu Cercarien nur eines Geschlechts führt, bedeutet das, daß zunehmend mehr Schnecken Cercarien beider Geschlechter ausstoßen können, was für die Infektion eines Endwirts von epidemiologischer Bedeutung sein kann.

Neben den bereits beschriebenen Anomalien am Gehäuse infizierter Schnecken konnte ich Einflüsse auf das Wachstum feststellen. Bei Infektionen mit 5 Miracidien je Schnecke fand ich im Gegensatz zu anderen Autoren keine Wachstumsacceleration infizierter Schnecken. Solche wurden von verschiedenen Autoren an Biomphalaria glabrata beschrieben (Pan 1965; Sturrock 1970). 6 Wochen nach der Infektion wurde der Wachstumsvorsprung infizierter Biomphalaria glabrata-Schnecken von den nicht exponierten Kontrolltieren wieder eingeholt (Pan 1965).
Auch Studien an Biomphalaria pfeifferi (Sturrock 1966; Meuleman 1972) zeigten Wachstumsvorsprünge infizierter Schnekken, die jedoch von der Kontrollgruppe nicht eingeholt wurden.

Bei meinen Versuchen fand ich im Gegensatz jedoch 2 Wochen p.i. einen Wachstumsvorsprung der gesunden Kontrollschnecken gegenüber muttersporocystentragenden und penetrierten, jedoch muttersporocystenfreien Schnecken (Tab. 3, Abb. 22). Ebenfalls keine Wachstumsacceleration infizierter Biomphalaria glabrata-Schnecken fanden Meier et. al. (1981) bei

Versuchen mit einem Schistosomenstamm aus Liberia und Perlowagora-Szumlewicz (1968) an Biomphalaria glabrata.
Die Infektionsversuche von Pan (1965) wurden mit Schnecken unterschiedlicher Größe (5,5 - 9 mm) und unbestimmter Miracidienzahl gemacht, während zu meinen Versuchen nur Schnecken mit 5 mm Gehäusedurchmesser zugelassen wurden, was den Unterschied unserer Ergebnisse erklären könnte.

Die Abstufung der Gehäusegrößen 13 Tage nach der Exposition bei negativen, positiven und gesunden (Kontrolle) Schnecken könnte man folgendermaßen erklären:

Negativ gebliebene Tiere wurden zwar von Miracidien penetriert und konnten die Infektion also unterdrücken. Die für deren Abbau benötigte Energie war für das Wachstum nicht verfügbar (Tab. 4).

Positive Schnecken tragen Muttersporocysten. Ein Teil der penetrierten Miracidien (etwa 3/4, Tab. 2, Zeile 6) konnte sich nicht weiterentwickeln oder wurde abgebaut. Die verbliebenen Muttersporocysten belasten zwar in gewissem Ausmaß auch den Energiehaushalt der Schnecke; ihr verbleibt aber noch genügend Energie zum Wachstum.
Diese Tendenz zeigt sich auch andeutungsweise bei der Gegenüberstellung der Anzahl ausgebildeter Muttersporocysten und dem entsprechenden Gehäusedurchmesser (Tab. 3). Je mehr Sporocysten die Schnecke trug, desto weniger Energie hatte sie zum Abbau penetrierter Miracidien verbraucht und desto größer konnte sie werden.

Gesunde Schnecken werden entsprechend am größten: Es wird keine Energie zum Abbau von Parasiten verbraucht.

4.4. Versuch D

Sowohl Eigenschaften des Wirts, als auch des Parasiten können das Parasit-Wirts-Verhältnis bestimmen.

Denkbar wäre einmal eine unterschiedliche Empfänglichkeit der Schnecken innerhalb der Population, wo zum Beispiel die Größe, weniger das Alter der Tiere, für den Infektionserfolg ausschlaggebend ist (Anderson 1982b).
Read (1958) definiert die Empfänglichkeit des adäquaten Zwischenwirts als physiologischen Zustand, der dem Parasiten ein geeignetes Milieu und befriedigende Lebensqualität bietet. Unempfänglichkeit bietet diesen Zustand nicht. Resistenz sei weiterhin eine Antwort des Wirts auf frühere oder momentane Kontakte mit Parasiten.

Die Miracidien könnten aber auch unterschiedlich erfolgreich in der Wirtsfindung (Coutinho et al., 1981) oder in der Fähigkeit sein, sich der Abwehr des Wirts zu entziehen (Wright 1974).

Die von mir benutzten Schnecken gleicher Größe stellen eine homogene Gruppe dar (Vorversuch 2). Obwohl je 5 Miracidien der 7 Versuchsgruppen zwischen 5 Schnecken "wählen" konnten, unterschied sich die Infektionsrate nicht von der der Kontrollgruppe, in der einzeln exponiert wurde. Keine Schnecke der Versuchsgruppe wurde bevorzugt penetriert, was die Präparation bestätigte: nur eine Schnecke von 35 trug 2 Muttersporocysten. Chernin (1962) schloß ebenfalls aus ähnlichen Versuchen, daß die Miracidien die variablere Komponente des Parasit-Wirts-Verhältnisses darstellen.

Die Versuche des Teils D sollten klären, ob bereits angebotene Miracidien durch versuchte oder erfolgreiche Penetration die Empfänglichkeit der Schnecke für später folgende Miracidien ändern oder eine Resistenz induzieren. Denkbar wäre die Ausbildung einer Penetrationsbarriere und/oder einer Entwicklungsbarriere.

Die bei simultaner Gabe von 5 Miracidien gefundene Häufigkeitsverteilung der von 0 bis 5 Miracidien penetrierten Schnecken ist nicht binomial verteilt (Abb. 24a). Die gefun-

dene Verteilung hat ihr Maximum bei der von 3 Miracidien penetrierten Schneckengruppe. Das bei einer Binomialverteilung zu erwartende Maximum läge bei 4. Also ist die Penetrationswahrscheinlichkeit unter diesen Bedingungen verringert. Die gleichzeitigen Attacken von 5 Miracidien veranlassen die Schnecken zu den bereits oben erwähnten mechanischen Abwehrreaktionen. Zusätzlich scheiden sie wohl vermehrt Schleim aus. Die Abweichung der gefundenen Werte von den Erwartungswerten bei halbstündigen Intervallen (Abb. 24b) läßt sich ähnlich erklären. Die Schnecken werden durch andauernde, über 2 1/2 Stunden währende Miracidienattacken ebenso belästigt. Durch Hantieren zusätzlich gestört scheiden wohl auch sie vermehrt Schleim aus. Bei längeren Zeitintervallen, ab 1 Stunde und länger, steigt die Gesamtpenetrationsrate noch leicht an (Tab. 9, Zeile 5). Die Miracidien werden nicht mehr deutlich an der Penetration gehindert. Die Irritation der Schnecken kann offenbar in den Expositionspausen wieder abklingen.

Bei sukzessiver Miracidiengabe muß zwangsläufig im Laufe der Versuche ein Miracidium in eine bereits von einem oder mehreren Vorgängern penetrierte Schnecke einzudringen versuchen. Für Reinfektionen von Lymnaea stagnalis mit Isthmiophora melis (Klühspies 1983) wurde beschrieben, daß 3 bis 4 Wochen später nur noch etwa 1/3 der bei Erstexposition erfolgreichen Miracidien penetrierte. Es wäre also denkbar, daß in meinen Versuchen die Schnecke kurz nach der Penetration eines Miracidiums eine chemische Penetrationsbarriere gegen nachfolgende ausbildet.
Um dies an Biomphalaria glabrata zu testen, wählte ich die einhalb- und einstündig gestaffelten Expositionen als Kurzzeitintervalle.
Disko et al. (1979, 1984) beschrieben in diesem Zusammenhang eine innerhalb eines Tages rasch absinkende Attraktivität einer von Schistosoma mansoni infizierten Biomphalaria glabrata für nachfolgende Miracidien, die allerdings in seinen Versuchen mittels Filterpapier an der Penetration gehindert wurden. Gleichzeitig sank der Glutathion- (Disko et al., 1979)

und Ascorbinsäuregehalt (Disko et al., 1984) in der Schnekke.
Man könnte nun erwarten, daß bereits penetrierte Schnecken oder solche mit älteren Infektionen nicht mehr von später kommenden Miracidien angeschwommen oder nicht mehr penetriert werden. Auch bei bis zu 3-tägigen Pausen zwischen den einzelnen Expositionen konnte ich vom ersten bis zum letzten Miracidium hingegen keinen Rückgang des prozentualen Penetrationserfolgs feststellen (Tab. 7). Beim Angebot des letzten Miracidiums ist die Infektion durch das erste schon 12 Tage alt!
Obwohl Disko et al. (1979, 1984) von einem Attraktivitätsverlust bereits penetrierter Schnecken spricht, kann ich bei meinen Versuchen nicht einmal eine Penetrationsbarriere gegen später als eine Stunde nachfolgende Miracidien erkennen. Auch Basch (1976) berichtet: "There is furthermore no barrier to entrance of miracidia of several different species of trematodes belonging to a variety of groups so long as each separately is compatible with the host snail." Eine Penetrationsbarriere mechanischer Art wird nur bei Simultanexposition, andeutungsweise auch bei halbstündigen Intervallen, erkennbar.

Als nächstes ist nach einer Entwicklungsbarriere zu fragen. Die Häufigkeitsverteilung der Schnecken mit 0 bis 5 Muttersporocysten entspricht, ausgenommen beim 3-Tagesintervall, nicht einer Binomialverteilung (Abb. 25 a-e). Bei den Präparationen fand ich regelmäßig häufiger als erwartet Schnecken, die keine Muttersporocyste trugen. Eine einfache Erklärung für diese Abweichung ist wegen mehrfacher Erscheinungen mit gleicher Wirkung, wie crowding effect junger Muttersporocysten und Erwerb einer Resistenz durch die Schnecke nicht möglich, und die Angleichung an ein mathematisches Modell wäre sehr kompliziert (persönliche Mitteilung Prof. Dr. Dietz).
Auffallend sind hier allerdings die gleichsinnigen Abweichungen der gefundenen Verteilungen in allen Diagrammen von den Erwartungswerten (Abb. 25 a-d).

Unter der Annahme, daß früher penetrierte Miracidien die Weiterentwicklung später kommender beeinträchtigen, sollte man bei der Präparation, 13 Tage nach der Exposition mit dem letzten Miracidium, weniger Schnecken mit Mehrfachinfektionen finden, als bei Simultanexposition mit derselben Dosis. Da ich die gefundenen Muttersporocysten nicht einem bestimmten, der nacheinander eingedrungenen Miracidien zuordnen konnte, wählte ich die Abnahme der Muttersporocystenzahlen als Ausdruck des reduzierten Entwicklungserfolgs der Miracidien.
Durch eine vermehrte zelluläre Abwehr der Schnecke, zum Beispiel induziert durch die Penetration eines Miracidiums, müßten nachfolgende beschleunigt abgebaut werden können, d.h. entweder nicht mehr zur Weiterentwicklung gelangen, oder als zum Teil degenerierte Muttersporocysten zu erkennen sein.

Nach der Penetration in eine adäquate Zwischenwirtsschnecke werden gewöhnlich keine Gewebsreaktionen ausgelöst, während ein nicht adäquater Schneckenwirt mit intensiver Zellabwehr antwortet (Sudds 1960; Basch 1976). Entsprechendes wurde auch für Fasciola gigantica und den normalen Zwischenwirt, Lymnaea natalensis, beschrieben. Redien werden im nicht adäquaten Zwischenwirt, Lymnaea rufescens, eingekapselt (Rao 1966). Newton (1952) nennt Schnecken resistent, wenn sie mit zellulärer Abwehr auf Miracidien reagieren.

Falls bei meinen zeitlich gestaffelten, im Vergleich zu simultanen Expositionen, die Schnecken weniger Muttersporocysten trügen, müßte ich annehmen, daß sie den Zustand der Resistenz nach früherer Penetration durch Miracidien erworben haben.
Bei der Präparation von in 1- und 3-Tagesintervallen infizierten Schnecken fand ich meine Erwartungen erfüllt. Zunächst angedeutet durch einen leicht, aber noch nicht deutlich reduzierten Prozentsatz infizierter Tiere (Tab. 9, Zeile 3) wird bei der Betrachtung der Muttersporocystenlast und somit auch beim Prozentsatz der mehrfach infizierten Schnekken (Tab. 9, Zeile 4 und Zeile 7), die reduzierte Entwick-

lungschance der Miracidien erkennbar.
Bereits vorhandene Muttersporocysten können sogar wieder verschwinden. Beim 3-Tagesintervallversuch fielen die Muttersporocysten schon durch ihre Erscheinung als graugelbliche Gebilde auf und deuteten eine mögliche Degeneration an. Auch Pan (1965) wies auf Veränderungen der Farbe als Degenerationsanzeichen hin. Bestätigt wird dies zusätzlich durch histologische Präparate des Schneckenfußes, in denen zelluläre Abwehrreaktionen erkennbar sind (Abb. 27a, b). Die Muttersporocysten unterscheiden sich deutlich von noch gesunden gleichen Alters (Abb. 10). Auch Lie et al. (1983) konnten durch Infektion mit - allerdings mit Röntgenstrahlen behandelten Schistosoma mansoni-Miracidien - eine Resistenz gegen homologe Reinfektion in Biomphalaria glabrata induzieren.

Eine verstärkte zelluläre Abwehr läßt ein Anschwellen des entsprechenden Bildungsgewebes erwarten. Lie et al. (1975a) beschrieben den Raum zwischen Pericardwand und Mantelhöhlenepithel als Bildungsort von Abwehrzellen, nämlich Amoebocyten, in Biomphalaria glabrata. Infizierte Schnecken zeigen im Gegensatz zu nicht exponierten eine deutliche Verdickung dieses Bereichs.
Auch in Galba truncatula wurde dieser Bereich als amoebocytenproduzierendes Organ gefunden (Rondelaud et al., 1981).

In den histologischen Präparaten aus meinen 3-Tagesintervallversuchen ist eine deutliche Verdickung des "Lie'schen Organs" zu erkennen. Die auffallenden Zellanhäufungen deuten auf vermehrte Produktion von Amoebocyten hin (Abb. 29, 30). Massenexponierte Schnecken lassen zum Teil eine deutliche Amoebocytenproduktion erkennen, wie auch Tiere mit alten Infektionen (50 d.p.i.), wo diese vermutlich auch durch abgestorbene Cercarien induziert wurde.
Man könnte nun vermuten, daß Ausbildungszustand oder Dicke dieses Organs mit der Zahl bereits abgebauter Muttersporocysten korreliert ist. Dies ist jedoch nicht der Fall. Sogar innerhalb desselben Tieres kann man Bereiche ohne Zell-

teilung am Pericard finden, während andere auffallende Zellhaufen enthalten (Abb. 29). Aufgrund des variablen Erscheinungsbildes kann ich einem definierten Parasitierungsgrad bisher keinen entsprechenden Aktivitätszustand des Lie'schen Organs zuordnen.
Auch Lie (1976a) beschrieb die Dicke der Zellhaufen als unabhängig von der Einkapselung von Echinostoma-Sporocysten. Die maximale Ausdehnung sei 20 Stunden nach der Infektion erreicht (Lie 1975c) und bilde sich 4 Tage später wieder zurück (Lie 1976b). Wohl aus demselben Grund finde ich erst ab 1-tägig gestaffelter Miracidiengabe eine Abnahme der Muttersporocystenzahlen. Beim 3-Tagesintervall wird der aktive Zustand des Organs durch neuerliche Miracidiengaben für längere Zeit erhalten.

Nachdem ich gefunden hatte, daß früher penetrierte Miracidien die Ausbildung nachfolgender wohl durch die Induktion einer zellulären Abwehr in der Schnecke behindern, stellte sich die Frage nach der Effektivität dieser Abwehrreaktionen.

In Schnecken, die keine Muttersporocysten mehr im Fußgewebe trugen, wiesen nur die in Schnittpräparaten erkennbaren vereinzelten Tochtersporocysten auf eine bestehende Parasitierung hin. Außerdem konnte ich erkennen, daß eine Abwehr nachfolgender Miracidien erst bei längeren Pausen (1 Tag und länger) zwischen den Expositionen wirksam wird. Man findet trotz zellulärer Abwehr immer noch mehrfach infizierte Schnecken. Die Zahl der Muttersporocysten je parasitierte Schnecke ist allerdings geringer und ihre Lebensdauer kürzer, da ein Abbau schon in der Präpatenz erfolgen kann. Eine völlige Unterdrückung nachfolgender Infektionen ist offenbar nicht möglich. Die Schnecke erwirbt nur eine Teilresistenz.
Eine völlige Resistenz sollte aber die Entwicklung weiterer Miracidien ausschließen und die Schnecke somit nur Cercarien eines Geschlechts entlassen. Man beobachtet jedoch regelmäßig zweigeschlechtliche Cercarienproduktion in Schneckenpopulationen (Stirewalt 1951). Daraus könnte man schließen,

daß Biomphalaria glabrata keine Resistenz gegen nachfolgende Miracidien erwirbt. Meine Versuche zeigen, daß durchaus ein Mittelweg zwischen Fehlen und Erwerb einer totalen Resistenz beschritten werden kann.
Inwieweit es sich hierbei um eine spezifische Zellreaktion handelt, bleibt noch zu klären. Lie (1975b, 1976a) berichtet diesbezüglich über eine spezifische Reaktion in Biomphalaria glabrata auf Reinfektion mit Echinostoma lindoense. Die sensibilisierten Schnecken ließen eine Infektion mit Schistosoma mansoni unbehelligt. Ein Befund dieser Tragweite bedarf allerdings noch der Bestätigung durch wiederholte Versuche.

Das Auftreten von Immun- und Resistenzphänomenen in Schnekken wird in der Literatur kontrovers diskutiert.
Culbertson (1941) hält Immunisierungsvorgänge in Schnecken nach Infektionen mit Trematoden für sicher, während andere Autoren (File 1975; Kagan et al., 1964) sogar Resistenzerwerb bezweifeln (s.o.).
Tripp (1961) zeigte, daß Schnecken im allgemeinen mit Abwehrzellen auf körperfremde Substanzen reagieren können. Diese unspezifischen Reaktionen der Schnecken müßten, wenn man von einer Immunisierung sprechen wollte, durch eine spezifische adaptive Immunantwort verstärkt werden.
Im nicht adäquaten Zwischenwirt setzt eine zelluläre Abwehr erst 48 Stunden nach der Penetration ein (Newton 1952). Abwehrreaktionen gegen fremdes Material können sowohl zellulärer als auch humoraler Art sein (Brooks 1969; Tripp 1975). Sog. "natural antibodies" (Boyden 1966) sollen durch Änderung der Oberflächenmerkmale des Fremdkörpers diese für Amoebocyten kenntlich machen (etwa einer Opsonisierung vergleichbar). Humorale Abwehrmechanismen stellen die miracidial immobilizing substances dar (MIS) (Michelson 1963). Extrakte aus Nichtzwischenwirtsschnecken (Benex et al., 1958) oder aus infizierten Biomphalaria glabrata (Michelson 1964b) immobilisieren Schistosoma mansoni-Miracidien in vitro.

Bei der Anwendung der hier gewonnenen Erkenntnisse auf einen hypothetischen Übertragungsort von Schistosoma mansoni werden einige Regulationsmechanismen erkennbar.
Bei hoher Miracidiendichte (≙ Simultanexposition - Versuch C) wird ein starker Parasitierungsgrad der Schnecken erreicht. Gleichzeitig steigt mit dem Prozentsatz mehrfach infizierter Schnecken auch die Mortalität der Zwischenwirte in der Präpatenz (Neu-Yilik 1984) und in der Patenz (Chu et al., 1966; Frandsen 1975 an Bulinus forskalii und Schistosoma intercalatum), während in meinen Versuchen wenigstens bis zum 13. Tag p.i. noch keine Schnecken starben.
Man erwartet dort also viele Schnecken mit Mehrfachinfektionen, wobei jedoch die durchschnittliche Muttersporocystenzahl von in Massen exponierten Schnecken bei nur etwa 4 liegen soll (Pan 1965). Aufgrund ihrer verkürzten Lebensdauer stoßen viele Schnecken nur über einen kurzen Zeitraum Cercarien aus.
Bei geringer Miracidiendichte, was in meinen 1- und 3-Tagesintervallversuchen (Versuch D) simuliert wird, wird trotz gleicher Gesamtzahl angebotener Miracidien durch die zelluläre Abwehr der Schnecke in gewissem Maße erreicht, daß unter den exponierten Schnecken weniger Tiere mit Mehrfachinfektionen zu finden sind. Aufgrund der daraus resultierenden geringeren Parasitendichte im Zwischenwirt sollte man eine längere Lebensdauer der Schnecken erwarten können, wodurch die Schnecken über längere Zeit patent bleiben.
Tochtersporocysten können die Mitteldarmdrüse auch dann erreichen, wenn die Muttersporocysten unter Umständen schon in der Präpatenz abgebaut werden, was den Eindruck erweckt, als hätten keine existiert. Ich fand deshalb beim 3-Tagesintervallversuch eine im Vergleich zur Simultanexposition nur wenig erniedrigte Befallsrate der Schnecken. Zusätzlich zu solchen, die durch die Anwesenheit einer Muttersporocyste als parasitiert eindeutig erkennbar waren, hätten aber auch die Schnecken Cercarien ausgestoßen, deren Mitteldarmdrüse von Tochtersporocysten erreicht wurde, wo aber die zugehörige Muttersporocyste schon abgebaut war.

Durch einen Regelmechanismus über die zelluläre Abwehr der Schnecke wird auch bei geringer Miracidiendichte eine effektive Parasitierung der Zwischenwirtspopulation erreicht.

In diesem Zusammenhang gewinnt nun die Dauer der Produktion von Tochtersporocysten I (= 1. Tochtersporocystengeneration) durch die Muttersporocyste an Interesse. Das Ende der Cercarienproduktion ist ja, wenn nicht durch den Tod der Schnekke, durch Spontanheilung bestimmt. Auf die Dauer der Patenz zu achten, würde einige Aussagen ermöglichen. Folgende hypothetische Möglichkeiten wären so nachzuprüfen: Eine unimiracidiell infizierte Schnecke wird nicht resistent; ihre Muttersporocyste produziert längere Zeit (9 Wochen p.i. in Versuch B) Tochtersporocysten I, die das Parasitenreservoir in der Mitteldarmdrüse später wieder auffüllen können, auch wenn die älteren Tochtersporocysten bereits völlig auf Cercarienproduktion umgestellt haben und diese Cercarien ausgewandert sind.
Im Gegensatz dazu müßte eine Teilresistenz, die vorhandene Muttersporocysten früher abbauen läßt, eine folgende Wiederauffüllung verhindern und eine etwaige Spontanheilung früher eintreten lassen.

Es könnte sein, daß unter wechselndem Endemiegrad - etwa jahreszeitlich oder geographisch - eine schließlich im ganzen mehr ausgeglichene Cercarienproduktion stattfindet, was für den Parasiten günstig wäre.
Man könnte nämlich unter hypoendemischen Bedingungen eine schwächere Cercarienproduktion über längere Zeit, unter hyperendemischen eine stärkere über kürzere Zeit erwarten. Allerdings ist noch unbekannt, ob nicht eine verkürzte Produktion von Tochtersporocysten I durch verlängerte Produktion weiterer Tochtersporocystengenerationen ausgeglichen werden kann. Dies würde zu einer, wenn auch zeitlich verzögerten, so doch dann etwa gleich starken Cercarienproduktion führen. Damit würde sich die erworbene Teilresistenz auf die Gesamtcercarienausschüttung (etwa im Sinne des Annual Transmission-Potential) vielleicht nicht zahlenmäßig auswirken, wohl aber

eventuell qualitativ, wenn nur noch eine Muttersporocyste produziert und somit nur Cercarien eines Geschlechts entstehen.

Befallsraten in Übertragungsgebieten sind gewöhnlich sehr niedrig (Hairston 1973). In Sao Paulo (Brasilien) wurden unter 3088 Biomphalaria tenagophila nur 2 parasitierte Tiere gefunden. Beim Abwasserzufluß desselben Gewässers waren von 81 untersuchten Schnecken immerhin 9 parasitiert (Amaral 1967).
Extremwerte von 66 % Prävalenz in Biomphalaria camerunensis mit Schistosoma mansoni wurden von Colaert et al. (1977) aus Kinshasa (Republique du Zaire) angegeben. Prävalenzen größer als 10 % scheinen aber äußerst selten zu sein.

Angesichts dieser deutlichen Unterschiede in der Prävalenz wäre es von epidemiologischem Interesse, die Miracidiendichte in Übertragungsgebieten, die Muttersporocystenlast der Zwischenwirtsschnecken und zusätzlich deren amoebocytenproduzierendes Organ zu untersuchen, um schließlich die gefundenen Ergebnisse mit den hier dargestellten bei Schistosoma mansoni und Biomphalaria glabrata zu vergleichen und möglicherweise in ein mathematisches Modell der Schistosomiasis einfließen zu lassen.

5. Zusammenfassung

1) Der Einfluß des Penetrationsorts an Biomphalaria glabrata sowie Anzahl und Dauer vergeblicher Penetrationsversuche auf den Penetrations- und Entwicklungserfolg von Schistosoma mansoni-Miracidien wurde in Einzelbeobachtungen untersucht (Abb. 6 - 8).

- Insgesamt die Hälfte der eingedrungenen Miracidien entwickelten sich bei unimiracidieller Exposition unabhängig vom Penetrationsort, weiter bis zum Cercarienausstoß (Abb. 1, Abb. 6).
- Sowohl der Penetrations-, als auch der Infektionserfolg eines Miracidiums nimmt mit der Anzahl und Dauer erfolgloser Penetrationsversuche ab (Abb. 7, Abb. 8).
- Beim Vergleich von Penetrationsort und Lage der Muttersporocyste konnte durch Einzelbeobachtungen festgestellt werden, daß ein Teil der Miracidien nach der Penetration noch wandert (Abb. 9). Die bevorzugte Wanderungsrichtung war vom Kopfbereich, wohl hauptsächlich bedingt durch die Buccalapparatbewegungen, weg in Richtung Fußbasis.
- Wenn eine Muttersporocyste 13 Tage nach einer unimiracidiellen Exposition vorhanden war, entließ die Schnekke später in jedem Fall auch Cercarien.
- Eine Muttersporocyste konnte auch noch 9 Wochen p.i. Tochtersporocysten enthalten.

2) Bei der Simultanexposition einer Biomphalaria glabrata mit je 3, 5 oder 8 Schistosoma mansoni-Miracidien wurde der Einfluß der Miracidiendosis auf den Penetrations- und Entwicklungserfolg der Miracidien untersucht (Tab. 2).

- Die Gesamtinfektionsrate und der Prozentsatz mehrfach infizierter Schnecken stieg bis zur Exposition mit je 8 Miracidien noch linear an (Abb. 13, Abb. 14).
- Der Penetrationserfolg eines Miracidiums war bei 3 und 5, im Vergleich zu 1 und 8 Miracidien je Schnecke reduziert (Abb. 15).

- Der Entwicklungserfolg eines Miracidiums war bei den Dosen 3, 5 und 8 Miracidien je Schnecke gleich, jedoch deutlich geringer als bei unimiracidieller Exposition (Abb. 16).

- Der Gehäusedurchmesser der mit 5 Miracidien exponierten Schnecken war 13 d.p.i. bei penetrierten, jedoch negativ gebliebenen, also muttersporocystenfreien Tieren, am geringsten.
  Muttersporocystentragende Schnecken waren deutlich größer als diese, gesunde Kontrollschnecken waren am größten (Abb. 22, Tab. 4).

3) Bei der Expositionsdosis mit 5 Schistosoma mansoni-Miracidien je Schnecke wurde bei zeitlich gestaffelter Exposition (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d) das Vorhandensein einer Penetrationsbarriere gegen nachfolgende Miracidien und die Ausbildung einer zellulären Abwehr untersucht.

- Die Penetrationschance eines Miracidiums war bei Simultan- und teilweise auch bei halbstündiger Exposition aufgrund mechanischer Abwehr der Schnecke geringer als bei längeren Pausen zwischen den Miracidiengaben (Tab. 9). Eine Penetrationsbarriere gegen später als eine Stunde eindringende Miracidien wurde nicht festgestellt (Tab. 7).

- Eine zelluläre Abwehr der Schnecke gegen später eingedrungene Miracidien wurde bei den 3-tägigen Intervallen infizierten Schnecken erkennbar. Signifikant weniger Schnecken trugen Mehrfachinfektionen als bei Versuchen mit kürzeren Zeitintervallen (Abb. 27 a, b). Biomphalaria glabrata konnte also gegen später als 1 bis 3 Tage penetrierte Schistosoma mansoni-Miracidien eine Teilresistenz erwerben.

4) Die in 3-tägigen Intervallen infizierten Schnecken wurden zusätzlich auf den Ausbildungszustand des amoebocytenproduzierenden Organs ("Lie'sches Organ") untersucht.

- In histologischen Präparaten aus letzteren Tieren konnte zusätzlich zu Abbauerscheinungen an Muttersporocysten im Fuß (Abb. 27 a, b) eine deutliche Amoebocytenproduktion im Lie'schen Organ (an der Pericardwand) festgestellt werden (Abb. 29, Abb. 30).
- Der Ausbildungszustand des Lie'schen Organs ließ sich bisher nicht mit der Anzahl bereits abgebauter Miracidien oder Muttersporocysten korrelieren.

6. Literaturangaben

Amaral, A.D.F. (1967): Focos autóctones de esquistossomose mansoni município de Sao Paulo (Brasil)
Revta Hosp. Cli. Fac. Med. Univ. S. Paulo 22, 2: 59 - 64

Anderson, R.M.; D.M. Gordon (1982a): Processes influencing the distribution of parasite numbers within host population with special emphasis on parasite induced
Parasit. 85: 373 - 398

Anderson, R.M.; J. G. Mercer; R.A. Wilson; N.P. Carter (1982b): Transmission of Schistosoma mansoni from man to Snail: Experimental studies of miracidial survival and infectivity in relation to larval age, water temperature, host size and host age
Parasitology 85: 339 - 360

Basch, P.F. (1976): Parasitological Review. Intermediate host specificity in Schistosoma mansoni
Exp. Parasit. 39: 150 - 169

Becker, W. (1968): Untersuchungen über die aus der Muttersporocyste auswandernden Tochtersporocysten von Schistosoma mansoni: I. Beiträge zum Kohlenhydratstoffwechsel dieser Stadien
Z.f. Parasitenkd. 30: 233 - 251

Becker, W. (1970): Untersuchungen über die aus der Muttersporocyste auswandernden Tochtersporocysten von Schistosoma mansoni: II. Die Wanderung dieser Stadien zur Mitteldarmdrüse
Z.f. Parasitenkd. 34: 226 - 241

Benex, J., L. Lamy (1959): Immobilisation des miracidiums de Schistosoma mansoni par des extraits de planoches
Bull. Soc. Path. Erot. 52: 188 - 193

Boyden, S.V. (1966): Natural antibodies and the immune response
Advances Immunology 5: 1 - 28

Brooks, W.M. (1969): Mulluscan immunity to metazoan parasites aus: Immunity to parasitic animals v.1.
Appleton-Century-Crofts, New York: 149 - 171

Burck, H.C. (1966): Histologische Technik. Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 1 - 144

Carter, N.P.; R.M. Anderson; R.A. Wilson (1982): Transmission of Schistosoma mansoni from man to snail: Laboratory studies on the influence of snail and miracidial densities on transmission success
Parasit. 85: 361 - 372

Cavalli-Sforza, L. (1974): Biometrie: Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik.
F. Fischer-Verlag, Stuttgart

Chernin, E.; C.A. Dunavan (1962): The influence of host-parasite dispersion upon the capacity of Schistosoma mansoni to infect Australorbis glabratus
Amer. J. Trop. Med. Hyg. 11: 455 - 471

Chernin, E. (1968): Interference with the capacity of Schistosoma mansoni to infect the molluscan host
J. Parasit. 54: 509 - 512

Chernin, E.; Perlstein (1969): Further studies on interference with the hostfinding capacity of Schistosoma mansoni miracidia
J. Parasit. 55: 500 - 508

Chernin, E.; V.M. Antolics (1975): Penetrative capacity of Schistosoma mansoni miracidia
J. Parasit. 63 (3): 560 - 561

Christie, J.D.; M.A. Prentice (1978): The relationship between numbers of Schistosoma mansoni daughter sporocysts and miracidia
Ann Trop. Med. Parasit. 72: 197 - 198

Chu, K.Y., H. Sabbaghian; J. Massoud (1966): Host-parasite relationship of Bulinus truncatus and Schistosoma haematobium in Iran. 2. Effect of exposure dosage of miracidia on the bioligy of the snail host and the development of the parasite
Bull. Wld. Hlth. Org. 34: 121 - 130

Coil, W.H. (1981): Miracdial-penetration in Fascioloides magna (Trematoda)
Z. f. Parasitenkd. 65: 299 - 307

Colaert, J.; B. Lokombe; A. Fain; J. Vandepitte; M. Wery (1977): Présence d'un petit foyer autochtone de Bilharziose à Schistosoma mansoni à Kinshasa (Republique du Zaire)
Ann. Soc. berge Méd. trop. 57 (3): 157 - 162

Coutinho, F.A.B.; M. Griffin; J.D. Thomas (1981): A model of Schistosomiasis incorporating the searching capacity of the miracidium
Parasit. 82: 111 - 120

Culbertson, J.T. (1941): Immunity against animal parasites
Columbia University Press. New York N. Y. 166 - 167

DeWitt, W.B. (1954): Influence of temperature on penetration of snail hosts by Schistosoma mansoni miracidia
Exp. Parasit. 4: 271 - 276

Disko, R.; L. Weber (1979): Physiologie der Anlockung der Miracidien von Schistosoma mansoni an die Schnecke Biomphalaria glabrata
Tropenmed. und Parasit. 30 (2): 148 - 149

Disko, R., R. Mielcarek (1984): The behaviour of the ascorbic acid in the snail Biomphalaria glabrata after the infection with Schistosoma mansoni
11. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie e.V.

Dönges, J. (1974): A formula for the mean infection success per miracidium and a method of proving the homogenous susceptibility of snail population to trematode infection
Int. J. Parasit. 4: 403 - 407

Duke, B.O.L. (1952): On the rate of emergence of the cercariae of Schistosoma mansoni from Australorbis glabratus
J. Helminth. 26: 133 - 146

Dusanic, D.G.; R.M. Lewert (1963): Alterations of proteins of Australorbis glabratus hemolymph after exposure to Schistosoma mansoni miracidia
J. Infect. Dis. 112: 243 - 246

Etges, F.J.; W. Gresso (1965): Effects of Schistosoma mansoni upon fecundity in Australorbis glabratus
J. Parasit. 51 (5): 757 - 760

Ewers, W.H. (1960): Multiple infections of trematodes in a snail (Correspondence) Nature 186: 990

Faust, E.C.; W.A. Hoffmann (1934): Studies on schistosomiasis in Puerto Rico III. Biological studies. 1. The extramammalian phase of the life-cycle
Puerto Rice J. Pub. Health Trop. Med. 10: 1 - 47

File, S.K. (1975): Superinfection of Biomphalaria glabrata with Schistosoma mansoni
J. Parasit. 61: 75 - 78

Frandsen, F. (1975): Host parasite relationship of Bulinus forskalii (Ehrenberg) and Schistosoma intercalatum Fisher, 1934 from Camerun
J. Helminth. 49: 73 - 84

Gordon, R.M.; T.H. Davey; H. Peaston (1934): The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life-cycle of the schistosome concerned Schistosoma mansoni and Schistosoma haematobium
Ann. Trop. Med. Parasit. 28: 323 - 418

Hairston, N.G. (1973): The dynamics of transmission Epidemiology and control of Schistomoniasis (Bilharziasis) published by behalf of the World Health Org.
S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney

Jameson, H.L. (1902): On the origin of pearls
Proc. Zool. Soc. Lon. 1 (2): 140 - 166

Kagan, J.G.; S. Geiger (1964): Susceptibility of Australorbis glabratus to reinfection with Schistosoma mansoni
J. Parasit. 50: 474 - 475

Kastenholz, H.-D.; C. Meier-Brook (1982): The relation between Schistosoma mansoni and a lymnaeid snail
Malacologia: 22 (1-2): 77 - 80

Kelly, H.M. (1899): A statistical study of the parasites of the Unionidae
Bull. III. St. Lab. Nat. Hist. 5: 399 - 418

Kinoti, G.K. (1971): Observations on the infection of bulinid snails with Schistosoma matthei II. The mechanism of resistance to infection
Parasit. 62: 161 - 170

Klühspies, G. (1983): Angeborene und erworbene Resistenz von Lymnaea stagnalis und Radix ovata gegen Miracidien-Invasion
Z. f. Parasitenkd. 69: 591 - 611

Lie, K.J.; P.F. Basch; T. Umathevy (1965): Antagonism between two species of trematodes in the same snail
Nature (London) 206: 422 - 423

Lie, K.J.; P.F. Basch; D. Heynemann (1968a): Direct and indirect antagonism between Paryphostomum segregatum and Echinostoma paraensei in the snail Biomphalaria glabrata
Z. f. Parasitenkd. 31: 101 - 107

Lie, K.J.; P.F. Basch; D. Heynemann; A.J. Beck; J.R. Audy (1968b): Implications for trematode control of interspecific larval antagonism within snail host
Trans. of the Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 62: 299 - 319

Lie, K.J.; D. Heynemann (1975a): The origin of the amebocytes in Biomphalaria glabrata
J. Parasit. 61 (3): 574 - 576

Lie, K.J.; D. Heynemann (1975b): Studies on resistance in snails: a specific tissue reaction to Echinostoma lindoense in Biomphalaria glabrata snails
Int. J. Parasit. 5: 621 - 625

Lie, K.J.; D. Heynemann; H.K. Lim (1975c): Studies on resistance in snails: Specific resistance induced by irradiated miracidia of Echinostoma lindoense in Biomphalaria glabrata snails
Int. J. Parasit. 5: 627 - 632

Lie, K.J.; D. Heynemann (1976a): Studies on resistance in snails: III. Tissue reactions to Echinostoma lindoense sporocysts in sensitised and resentised Biomphalaria glabrata
J. Parasit. 62 (1): 51 - 58

Lie, K.J.; D. Heynemann; K.H. Jeong (1976b): Studies on resistance in snails: IV. Induction of ventricular capsules and changes in the amebocyte producing organ during sensitisation of Biomphalaria glabrata snails
J. Parasit. 62

Lie, K.J.; K.H. Jeong; D. Heynemann (1983): Acquired resistance in snails. Introduction of resistance to Schistosoma mansoni in Biomphalaria glabrata
Int. J. Parasit. 13 (3): 301 - 304

Lim, H.K.; D. Heynemann (1972): Intra-molluscan inter-trematode antagonism: a review of factors influencing the host-parasite system and its possible role in biological control
Adv. Parasit. 10: 191 - 268

Lo, C.T. (1972): Compatibility and host-parasite relationship between species of the genus Bulinus (Basommatophora, Planorbidae) and an Egyptian strain of Schistosoma haematobium (Trematoda, Digenea)
Malacologia 11: 225 - 280

Lutz, A. (1919): Schistosomum mansoni and Schistosomiasis observed in Brasil
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 11: 109 - 140

Macdonald, G. (1965): The dynamics of helminth infections with special reference to schistosomes
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 59 (5): 489 - 506

Manson-Bahr, P.; N.H. Fairley (1920): Observations on the bilharziasis amongst the Egyptian Expeditary Force Parasit. 12 (1): 33 - 71

Maramorosch, K.; R.E. Shope (1975): Invertebrate Immunity Mechanisms of invertebrate vector-parasite relations Academic Press, Inc. New York, San Francisco, London 1 - 365

Mattes, O. (1949): Wirtsfindung, Invasionsvorgang und Wirtsspezifität beim Fasciola-Miracidium Z.f. Parasitenkd. 14: 320 - 363

McMullen, D.B.; P.C. Beaver (1945): Studies on schistosoma dermatitis V. The life cycles of three dermatitis-producing schistosomes from birds and a discussion of subfamily Bilharziellinae (Trematoda: Schistosomatidae) Am. J. Hyg. 42: 128 - 155

Meier-Brook, C. (1976): An improved relaxing technique for molluscs using pentobarbital Malacol. Rev. 9: 115 - 117

Meier, M.; C. Meier-Brook (1981): Schistosoma mansoni: Effect on growth, fertility and development of distal male organ in Biomphalaria glabrata exposed to miracidia at different ages Z. f. Parasitenkd. 66: 121 - 131

Meulemann, E.A. (1972): Host-parasite interrelationship between the freshwater pulmonate Biomphalaria pfeifferi and the trematode Schistosoma mansoni Neth. J. Zool. 22: 355 - 427

Michelson, E.H. (1963): Development and specificity of miracidial immobilizing substances in extracts of the snail Australorbis glabratus exposed to various agents Ann. New York Acad. Sciences 113: 486 - 491

Michelson, E.H. (1964a): The protective action of Chaetogaster limnaei of snails exposed to Schistosoma mansoni
J. Parasit. 50: 441 - 444

Michelson, E.H. (1964b): Miracidia-immobilizing substances in extracts prepared from snails infected with Schistosoma mansoni
Am. J. Trop. Med. Hyg. 13: 36 - 42

Michelson, E.H.; L. DuBois (1975a): Intraspecific variations in the hemolymph of Biomphalaria glabrata a snails host of Schistosoma mansoni
Malacologia (Ann Arbor) 15: 105 - 111

Michelson, E.H. (1975b): Cellular defense mechanism and tissue alterations in gastropod molluscs
aus Invertebrate Immunity Mechanisms of invertebrate vector-parasite relations
Maramorosch, K.; R.E. Shope; Academic Press, Inc.
New York, San Francisco, London: 181 - 195

Neu-Yilik, G. (1984): Überlebensraten von Biomphalaria glabrata nach Infektion mit Schistosoma mansoni während der Präpatenz (Diplomarbeit, Tübingen)

Newton, W.T. (1952): The comparative tissue reaction of two strains of Australorbis glabratus to infection with Schistosoma mansoni
J. Parasit. 38: 362 - 366

Olivier, L.; C. Mao (1949): The early larval stages of Schistosoma mansoni Sambon, 1907 in the snail host Australorbis glabratus (Say, 1818)
J. Parasit. 35: 267 - 275

Pan, C.T. (1965): Studies on the host-parasite relationship between Schistosoma mansoni and the snail Australorbis glabratus
Am. J. Trop. Med. Hyg. 14 (6): 931 - 976

Perlowagora-Szumlewicz, A. (1968): The reaction of Australorbis glabratus (Biomphalaria glabrata) to infection with Schistosoma mansoni
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 10 (4) 219 - 228

Rankin, Jr., J.S. (1939): Ecological studies on larval trematodes from western Massachusetts
J. Parasit. 25 (4): 309 - 328

Rao, M.P.C. (1966): On the comparative susceptibility of Lymnaea natalensis (Kraus) and Lymnaea rufescens (Gray) to infection with Fasciola gigantica (West African strain) and the tissue responses in the snails
J. Helminth. 40: 131 - 140

Read, C.P. (1958): Status of behavioural and physiological resistance. Symposium on resistance and immunity in parasitic infections
Rice Inst. Pamphlet 45: 36 - 54

Richards, C.S. (1961): Emergence of cercariae of Schistosoma mansoni from Australorbis glabratus
J. Parasit. 47: 428

Richards, C.S. (1972): Pearl formation in Biomphalaria glabrata
J. Invert. Path. 15: 459 - 460

Richards, C.S. (1977): Schistosoma mansoni: Susceptibility reversal with age in the snail host Biomphalaria glabrata
Exp. Parasit. 42: 165 - 168

Romeis, B. (1948): Mikroskopische Technik
Leibniz-Verlag: 1 - 695

Rondelaud, D.; D. Barthe (1981): The development of the amebocyte-producing organ in Lymnaea truncatula Müller infected by Fasciola hepatica
Z. f. Parasitenkd. 65: 331 - 341

Sachs, L. (1972): Statistische Anwendungsmethoden, 4. Auflage, 1 - 546
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

Saladin, K.S. (1979): Review. Behavioural parasitology and perspectives on miracidial host-finding
Z. Parasitenkd. 60: 197 - 210

v. Salvini-Plawen (1979): Schnecken, Grzimeks Tierleben, Band 3: 50 - 135
dtv-Verlag

Schreiber, F.G.; M. Schubert (1949a): Experimental infection of the snail Australorbis glabratus with the trematode Schistosoma mansoni and the production of cercariae
J. Parasit. 35: 91 - 100

Schreiber, F.G.; M. Schubert (1949b): Results of exposure of the snail Australorbis glabratus to varying numbers of miracidia of Schistosoma mansoni
J. Parasit. 35: 590 - 592

Standen, O.D. (1951): Some observations upon the maintenance of Australorbis glabratus in the laboratory
Ann. Trop. Med. Parasit. 45: 80 - 85

Stirewalt, M. A. (1951): The frequency of bisexual infections of Schistosoma mansoni in snails of the species Australorbis glabratus (Say)
J. Parasit. 37: 42 - 47

Stirewalt, M.A. (1954): Effect of snail maintenance temperature on development of Schistosoma mansoni
Exp. Parasit. 3: 504 - 516

Sturrock, B.M. (1966): The influence of infection with Schistosoma mansoni on the growth rate and reproduction of Biomphalaria pfeifferi
Ann. Trop. Med. Parasit. 60: 187 - 197

Sturrock, B.M.; R.F. Sturrock (1970): Laboratory studies of the host-parasite relationship of Schistosoma mansoni and Biomphalaria glabrata from St. Lucia, West Indies
Ann. Trop. Med. Parasit. 64 (3): 357 - 363

Sudds, R.H. (1960): Observation of schistosome miracidial behaviour in the presence of normal and abnormal snail hosts and subsequent tissue studies of these hosts
J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 76: 121 - 133

Théron, A. (1981): Dynamics of larval population of Schistosoma mansoni in Biomphalaria glabrata
II. Chronobiology of the intramolluscan larval development during the shedding period
Ann. Trop. Med. 75 (5): 547 - 554

Tripp, M.R. (1961): The fate of foreign materials experimentally introduced into the snail Australorbis glabratus
J. Parasit. 47: 745 - 751

Tripp, M.R. (1963): Cellular responses of mollusks
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113: 467 - 474

Tripp, M.R. (1970): Defense mechanisms of mollusks
J. Reticuloendothelial Soc. 7: 173 - 182

Tripp, M. R. (1975a): General mechanisms and principles of invertebrate immunity
Immunity to parasitic animals v. 1
Appleton-Century-Crofts, New York

Tripp, M.R. (1975b): Humoral factors and molluscan immunity
Invertebrate immunity. Mechanisms of invertebrate vector-parasite relations
Academic Press, Inc. New York, San Francisco, London: 201 - 223

Upatham, E.S. (1972): Exposure of caged Biomphalaria glabrata (Say) to investigate dispersion of miracidia of Schistosoma mansoni Sambon in outdoor habitats in St. Lucia
J. Helminth. 46: 297 - 306

Upatham, E.S. (1973): The effect of water temperature on the penetration and development of St. Lucian Schistosoma mansoni in local Biomphalaria glabrata
S. Afr. J. Trop. Med. Publ. Hlth. 4: 367 - 370

Wajdi, N. (1964): Some observations on the relationship of Schistosoma mansoni with its intermediate host
J. Helminth. 38: 383 - 390

Wajdi, N. (1966): Penetration by the miracidia of Schistosoma mansoni into snail host
J. Helminth. XI: 235 - 244

Wilson, J.A. (1979): Principles of animal physiology
Macmillan publishing Co., Inc. New York
Collier Macmillan Publishers London: 1 - 891

Wright, C.A. (1971): Flukes and snails
London: Allen and Unwin LTD. 1 - 168

Wright, C.A. (1974): Snail susceptibility or trematode infectivity
J. Natural History 8: 545 - 548

Summary:

Schistosoma mansoni (Trematoda) in Biomphalaria glabrata (Gastropoda):

The alteration of reacitivity in the intermediate host and its effect on the further development of miracidia.

1) The penetration success of Schistosoma mansoni-miracidia as influenced by the site of penetration in the snail host, Biomphalaria glabrata, as well as by the duration and number of previous unsuccessful penetration attempts was observed individually and the capability to further develop was tested (Fig. 6 - 8).

   - After unimiracidial exposure around one half of penetrated miracidia developed till cercarial release, independent from the penetration site (Fig. 1, Fig. 6).
   - Number and duration of previous unsuccessful penetration attempts reduced the penetration and infection success of miracidia (Fig. 7, Fig. 8).
   - Comparing the sites of penetration and mother sporocyst development, I found that miracidia partially migrate after penetration. The preferential migration sense was from the forehead toward the foot base, perhaps caused mainly by buccal mass motions (Fig. 9).
   - Whenever a mother sporocyst was visible thirteen days after a unimiracidial exposure, cercariae were finally released.
   - As long as nine weeks p.i. mother sporocysts could harbour daughter sporocysts.

2) The effect of varying dosage on the penetration success and development of miracidia was tested with simultaneous exposures to 3, 5 or 8 Schistosoma mansoni-miracidia.

   - The infection rate and the percentage of snails with multiple infections showed a linear increase with miracidial doses up to eight (Fig. 13, Fig. 14).

- The penetration success of a miracidium was reduced in exposures to three and five, as compared to that with one and eight miracidia per snail (Fig. 15).
- When snails were exposed to three, five, or eight miracidia, each miracidium had about the same chance to develop. This chance, however, was significantly lower than after unimiracidial exposures (Fig. 16).
- Thirteen days post exposure to five miracidia maximum diameters were lowest in snails that had been penetrated but remained negative, i.e. free from mother sporocysts.
  Snails that carried mother sporocysts were significantly larger, whereas unexposed control snails were largest (Fig. 22, Tab. 4).

3) In experiments with exposures of one snail to five Schistosoma mansoni-miracidia in varying intervals (1/2 h, 1 h, 1 d, 3 d) I tested the potential existence of a penetration barrier, as well as cellular defense mechanisms directed against following miracidia.

- Unlike in long time intervalls (1 d, 3 d), the penetration chance of one miracidium was reduced in simultaneous and - though slightly - in the 1/2 h - interval exposures (Tab. 9).
  Against miracidia penetrating later than one hour after a previous one a penetration barrier was not formed.
- In 3 days-intervals a cellular defense became evident: Significantly less snails carry multiple infections than in experiments with shorter intervals (Fig. 27 a, b).
  Biomphalaria glabrata was able to develop a partial resistance against challenge infections by miracidia penetrating later than one to three days after previous penetrations.

4) Snails exposed in three-days-intervals were, moreover, examined for activity states or their amebocyte producing organs (which is named here "Lie's Organ").

- Histological preparations of such snails show a conspicious amebocyte production at the pericardial (Fig. 29, Fig. 30), walls in addition to degenerations in mother sporocysts lying in the foot (Fig. 27**a**, **b**).
- The quantity of amebocyte production could so far not be correlated with the number of miracidia or mother sporocyst already degenerated.

Meine akademischen Lehrer:

Mikrobiologie:	Prof. Dr. V. Braun, Prof. Dr. O. Klee, Prof. Ph. D. E. Sander, Prof. Dr. H. Zähner
Genetik:	Prof. Dr. V. Hemleben, Prof. Dr. W. Seyffert, Prof. Dr. R. Knippers (Universität Konstanz)
Biochemie:	Prof. Dr. D. Mecke, Prof. Dr. Pette (Universität Konstanz)
Humanparasitologie:	Priv. Doz. J. Grunewald, Priv. Doz. Dr. C. Meier-Brook, Prof. Dr. P. Wenk

LEBENSLAUF

Name:	Hans-Dieter Arnold Kastenholz
geboren am:	30. November 1952
in:	Mainz-Mombach
Familienstand:	verheiratet mit Dr. Ulrike Kastenholz, geb. Blanc
Eltern:	Matthias Kastenholz, Regierungsangestellter; Klothilde Kastenholz, geb. Hoffmann

Schulbesuch:	1959 bis 1964:	Maler-Becker-Schule Mainz-Gonsenheim
	1964 bis 1972:	Willigis-Gymnasium Mainz
	16.5.1972:	Reifeprüfung
Wehrdienst:	1.7.1972 bis 31.8.1974	
Studium:	1974 bis 1976:	Universität Konstanz
	1976 bis 1983:	Eberhard-Karls-Universität Tübingen
	30.5.1980:	Diplomhauptprüfung in Mikrobiologie, Genetik, Biochemie, Humanparasitologie
		Diplomarbeit bei Priv. Doz. Dr. C. Meier-Brook
	November 1980 bis Juni 1984:	Anfertigung einer Dissertation am Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen Betreuer: Priv. Doz. Dr. C. Meier-Brook

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45